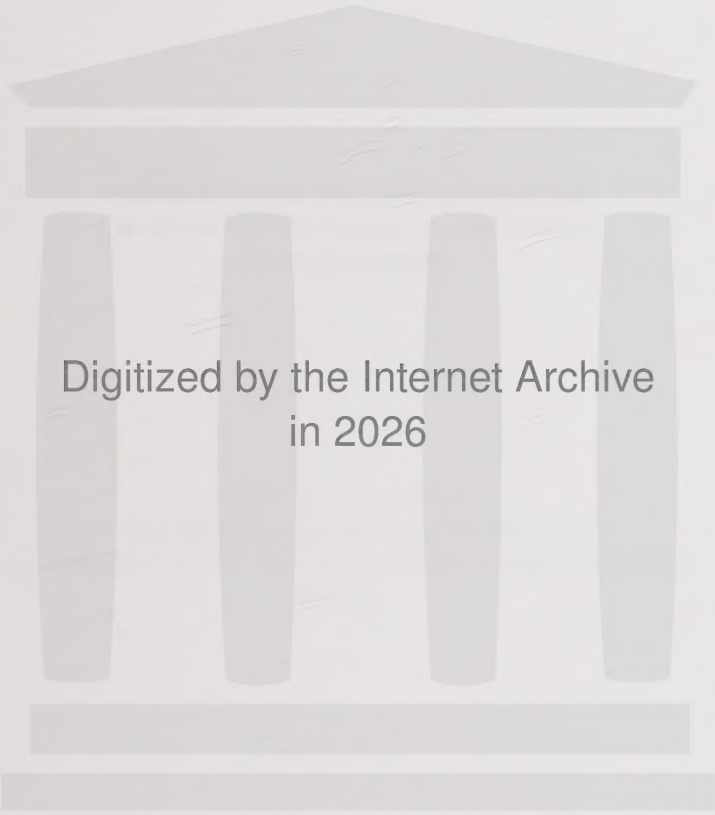


MESOPHILER AEROBER
BZW. FAKULTATIV ANAEROBER
KEIMBESATZ VON FRISCHGÜLLE
UND FAULSCHLAMM DER
BIOGASGEWINNUNG

Anne von Stromberg

Luss
München
905



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr.h.c.mult. A.Mayr

Arbeit angefertigt unter Leitung von Frau Prof. Dr. B. Gedek

MESOPHILER AEROBER BZW. FAKULTATIV ANAEROBER
KEIMBESATZ VON FRISCHGÜLLE UND FAULSCHLAMM
DER BIOGASGEWINNUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Anne von Stromberg
aus
Erlangen
München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan : Prof. Dr. W. Leidl

Referent : Prof. Dr. B. Gedek

Korreferent : Prof. Dr. Dr.habil. H.E. König

Tag der Promotion : 22. Februar 1985

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. <u>EINLEITUNG</u>	1
2. <u>SCHRIFTTUM</u>	
2.1. Biogasproduktion	3
2.1.1. Geschichtlicher Rückblick	3
2.1.2. Biochemische Grundlagen der Methangärung	4
2.1.3. Prozeßfaktoren	5
2.1.4. Faulschlamm	7
2.1.5. Betriebssysteme	
2.1.5.1. Diskontinuierliche Anlagen	8
2.1.5.2. Kontinuierliche Anlagen	8
2.1.6. Kläranlage	10
2.2. Hygienisierung von Klärschlamm und Gülle durch Ausfäulung	12
2.3. Vorkommen und Verhalten von Salmonellen während der Ausfäulung von Klärschlamm und Gülle	16
2.4. Vorkommen und Verhalten von Escherichia coli und verwandten coliformen Keimen während der Ausfäulung von Klärschlamm und Gülle	16
3. <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	
3.1. <u>MATERIAL UND METHODEN</u>	
3.1.1. Art und Herkunft des Untersuchungsmaterials	22
3.1.2. Probeziehung	26
3.1.3. Keimgehaltsbestimmungen	26
3.1.4. Selektionsverfahren zum Nachweis von Salmonellen	28
3.1.5. Isolierung und Identifizierung anderer Entero- bacteriaceae für die Ermittlung ihrer Ansprech- barkeit gegenüber Chemotherapeutika	32

	Seite
3.1.6. Empfindlichkeitsprüfung von <i>Escherichia coli</i> und verwandten coliformen Keimen sowie von <i>Proteus</i> spp. gegenüber Chemotherapeutika	33
3.1.6.1. Durchführung des Plattendiffusionsverfahrens	33
3.1.6.2. Interpretation der Antibiotogramme	34
3.2. <u>ERGEBNISSE UND DEREN BESPRECHUNG</u>	
3.2.1. Quantitative Untersuchungsbefunde von Frischgülle und Faulschlamm	36
3.2.1.1. Lebendkeimzahl mesophiler aerober bzw. fakultativ anaerober Bakterien	37
3.2.1.2. Anzahl lebensfähiger <i>Escherichia coli</i> und verwandter coliformer Keime	43
3.2.1.3. Anzahl lebensfähiger Schimmelpilze und Hefen	50
3.2.2. Qualitative Untersuchungsbefunde von Frischgülle und Faulschlamm sowie Kot	50
3.2.2.1. Nachweis von Salmonellen	51
3.2.2.2. Resistenzeigenschaften von <i>E.coli</i> und verwandten coliformen Keimen gegenüber Chemotherapeutika	52
3.2.2.2.1. Allgemeine Resistenzquoten	53
3.2.2.2.2. Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz bzw. Empfindlichkeit	54
3.2.2.2.3. Merkmalskombinationen	56
3.2.2.2.4. Bestandsbezogener Vergleich der Resistenzquoten von Isolaten aus Kot und Gülle	57
3.2.2.3. Resistenzeigenschaften von Keimen der Gattung <i>Proteus</i> gegenüber Chemotherapeutika	58
4. <u>DISKUSSION</u>	78
5. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u> SUMMARY	83
6. LITERATURVERZEICHNIS	89

Lebenslauf

1. EINLEITUNG

Leistungssteigerungen in der modernen Tierproduktion zur Deckung des ständig wachsenden Bedarfes an tierischem Eiweiß in der Welt bedeuten für die Erzeugungsländer eine stetige Zunahme von Abfallprodukten, die auf möglichst unschädliche und nicht zu kostenintensive Weise nutzbringend einem Recycling zugeführt werden sollen. Biologische Verfahren, bei denen man sich zu bestimmten Stoffumsetzungen befähigter Mikroorganismen bedient, sind diesbezüglich verschiedentlich physikalisch-chemischen Verfahren überlegen. Hierzu gehört auch die Gewinnung von Biogas durch mikrobiell gesteuerte Fermentationsprozesse.

Da es sich bei dem Ausgangsmaterial um Kot und Harn handelt, zuweilen vermischt mit anderen Materialien wie zum Beispiel Pflanzenabfällen, wäre eine gleichzeitige Hygienisierung der mit Krankheitserregern behafteten tierischen Exkrete wünschenswert. Insofern die Anlagen jedoch energiesparend betrieben werden, scheinen die im mesophilen Bereich liegenden Temperaturen die Krankheitserreger nicht abzutöten, wohl aber eventuell die durch andere Keime gebildeten Stoffwechselprodukte oder womöglich auch das allgemein den pathogenen Mikroorganismen nicht zusagende, veränderte Milieu.

Meine Aufgabe bestand darin,

1. den mesophilen aeroben bzw. fakultativ anaeroben Keimbesatz von Frischgülle und Faulschlamm verschiedener Betriebe zu erfassen und unter Einbeziehung biotechnischer Daten miteinander zu vergleichen,
2. durch selektive Anreicherung Frischgülle und Faulschlamm hinsichtlich des Gehaltes an Salmonellen zu überprüfen und
3. die jeweiligen Anteile an noch lebensfähigen *Escherichia coli* und verwandten coliformen Keimen in Frischgülle und Faulschlamm zu bestimmen und durch Testung ihrer Empfindlichkeit

gegenüber sieben ausgewählten Chemotherapeutika zu kontrollieren, ob die Zahl an R-Faktor-tragenden Vertretern dieser Keimgruppe zunimmt oder abnimmt.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Biogasproduktion

2.1.1. Geschichtlicher Rückblick

Die Biogasproduktion steht zwar erst seit einigen Jahren im Mittelpunkt des Interesses der Öffentlichkeit, das hauptsächlich im Biogas enthaltene, zu Heizzwecken geeignete Methan- oder Sumpfgas ist aber bereits seit dem 18. Jahrhundert bekannt. Konsequente Grundlagenforschung wurde etwa ab 1900 betrieben, und schon in den 20iger Jahren konnte manche Kläranlage das anfallende Gas nutzen. Nach dem 2. Weltkrieg wurden die ersten Biogasanlagen in der Landwirtschaft errichtet, aber aufgrund sinkender Rohölpreise, verfahrenstechnischer Unzulänglichkeiten sowie der damals wenig günstigen landwirtschaftlichen Produktionsstruktur mußte ihre Wirtschaftlichkeit in Europa bald in Frage gestellt werden.

(Wenzlaff,1981, Bischoff,1981)

In den Entwicklungsländern hingegen nahm die Bedeutung der Biogasanlagen als Alternative zur Verbrennung von Holz und Dung zu, so daß heute z.B. in China, Indien und Afrika bereits Tausende solcher Anlagen betrieben werden. Diese sind allerdings aufgrund der wirtschaftlichen, klimatischen und sozialen Verhältnisse meist recht einfacher Bauart. (Wenzlaff,1981) (s.Abb. 1)

Im Laufe der 70iger Jahre gewann die Biogasproduktion in Europa ihre Bedeutung zurück, wobei vor allem die steigenden Preise für Erdöl und andere fossile Energieträger eine Aktivierung der Erforschung von Alternativ-Technologien bewirkten. Aber auch Veränderungen in der Tierhaltung, die Verteuerung von Mineraldünger und der Wunsch nach Unabhängigkeit bei der Energieversorgung verstärkten die Weiterentwicklung speziell auf dem Gebiet der Biogasanlagen. Wenn auch heute der Schock über die "Ölkrise" längst abgeklungen ist, bleibt doch das Bewußtsein erhalten, daß in Zukunft nur eine Kombination von konventionellen und alternativen Energieformen sinnvoll sein kann. (Schulz,1980, Bischoff,1981)

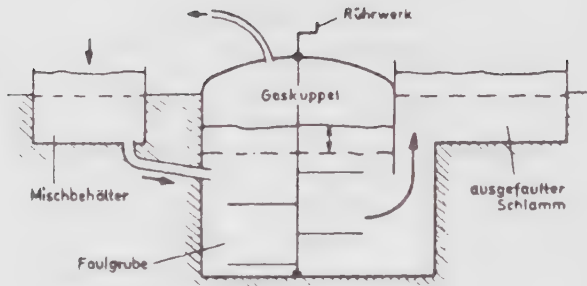


Abb.1 : Chinesische Faulgrube nach Fachinformationszentrum Energie, Physik, Mathematik GmbH, 1981

2.1.2. Biochemische Grundlagen der Methangärung

"Biogas entsteht bei bakteriellem Abbau von feuchtem organischen Material unter Luftabschluß." (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 1982) (s. Abb. 2)

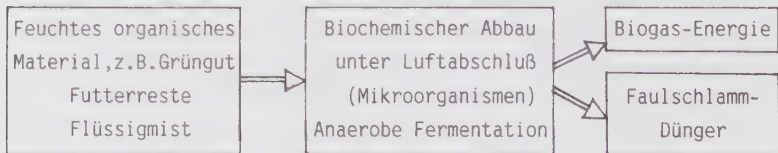


Abb.2 : Entstehung von Biogas nach Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 1982

Die Methanbildung im heutigen Prozeßablauf erfolgt in drei Stu-

fen, wobei in der 1.Stufe hochmolekulare organische Verbindungen (Kohlenhydrate, Eiweiße und Fette) durch Hydrolyse in niedermolekulare Verbindungen abgebaut werden. In der 2.Stufe bewirken säurebildende Bakterien den weiteren Abbau dieser Verbindungen, während in der 3.Stufe, der eigentlichen Methangärung, die Umwandlung der organischen Stoffe zu Methan und Kohlendioxid erfolgt. (Baader et al.,1978) (s.Abb. 3)

2.1.3. Prozeßfaktoren

Die Methanbakterien stellen den empfindlichsten Bestandteil der Biogasproduktion dar, weshalb sich die Prozeßführung in manchen Bereichen nach deren Lebensbedingungen richten muß.

Prinzipiell kann man die Methanbakterien in zwei technisch relevante Gruppen unterteilen, nämlich in mesophile Methanbakterien mit einem Temperaturoptimum von 30 - 37°C und in thermophile Methanbakterien mit einem Temperaturoptimum von 50 - 55°C. Da die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Biogasanlagen alle im mesophilen Bereich arbeiten, wird im folgenden die thermophile Temperaturspanne nicht berücksichtigt. Generell gilt jedoch, daß die Methanbakterien auf rasche Temperaturschwankungen - schon um 2-3°C - sehr empfindlich reagieren, da ihre Stoffwechselleistung und ihre Reproduktionsrate wie bei allen Mikroorganismen eine Funktion der Temperatur sind. Ein Abfall unter 15°C bringt die mikrobielle Aktivität nahezu zum Erliegen. (Strauch et al., 1977, Baader et al.,1978, Roediger,1979, Wenzlaff,1981)

Der pH - Wert sollte nicht unter 6,5 abfallen, da das pH-Optimum der Methanbakterien im schwach alkalischen Bereich liegt (7,0 - 7,5). Normalerweise wird der pH-Wert durch das Puffervermögen des Substrates stabil gehalten, nämlich durch die Bildung von Karbonaten über das freigesetzte CO₂. Durch eine Steigerung des Angebotes an organischer Substanz kann ein Überschuß an flüchtigen Säuren entstehen, der die Tätigkeit der Methanbakterien

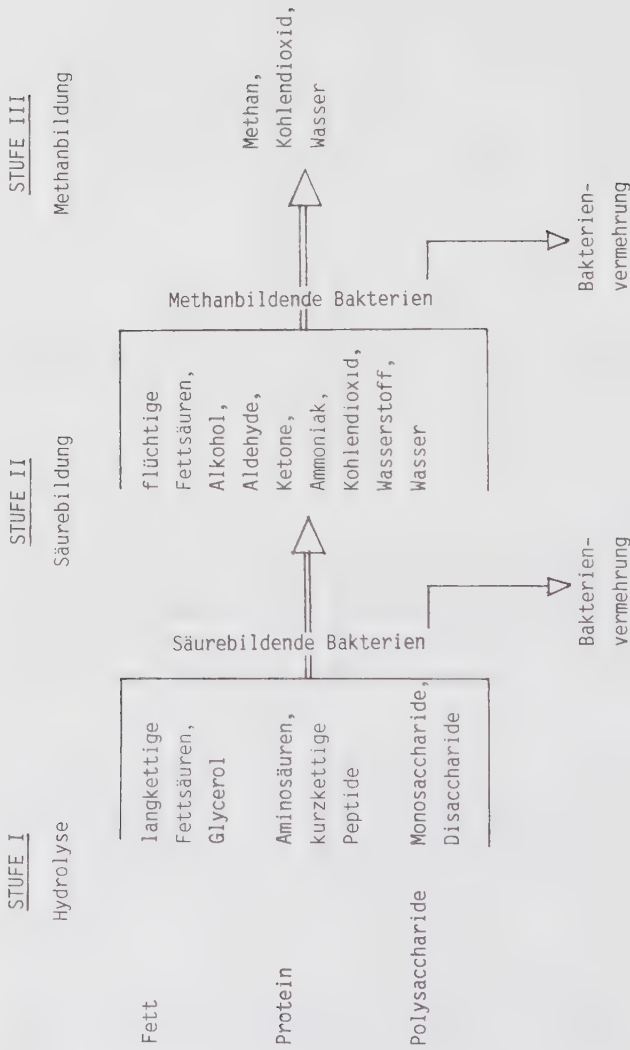


Abb. 3 : Prozeßstufen der anaeroben Fermentation nach Baader, 1978

hemmt. (Baader et al.,1978)

Die ungehinderte Aktivität der Bakterien setzt ein breites Nährstoffspektrum voraus, wobei im wesentlichen das Verhältnis von Kohlenstoff zu Stickstoff bestimmend ist (günstiger Bereich: $C / N = 10-16$). (Baader et al.,1978)

Die Konzentration der Gülle, also der Anfall an organischer Trockenmasse, spielt in der normalen Konzentration von 1-10% keine entscheidende Rolle im biologischen Prozeß.(Wenzlaff,1981)

Hingegen können schon geringe Konzentrationen einiger Hemmstoffe zu einer Störung der Fermentation führen. Zu diesen Stoffen zählen insbesondere Antibiotika, organische Lösungsmittel, Detergentien, Nitrat und Ammoniak. Der Ammoniakgehalt sollte 1500 g/l nicht überschreiten. (Baader et al.,1978)

Die Faulzeit in einem Biogasreaktor ist abhängig von der zugeführten Güllemenge, die in den heute üblichen Durchflusssystemen etwa die gleiche Menge Faulschlamm aus dem Faulraum verdrängt. Die Verweildauer wird - je nach gewünschtem Ausfaulgrad, Gärtemperatur und Anlagentyp - zumeist zwischen 20 und 40 Tagen angegeben. (Wenzlaff,1981)

Das Rühren des Gärbehälterinhaltes dient der Temperaturkonstanz sowie der Erneuerung der Phasengrenzflächen für den ungehinderten Stoffaustausch der Bakterien und verhindert weiterhin störende Sink- und Schwimmschichten. (Baader et al.,1978)

2.1.4. Faulschlamm

Vollständig ausgefaulter Schlamm ist nahezu geruchlos und hat mit dem Ammoniak auch seine ätzende Wirkung auf Grünpflanzen verloren, dafür enthält er sämtlichen Stickstoff in Form von pflanzlich resorbierbaren Substanzen (vor allem Nitrate und Ni-

trite). Sein hoher Düngewert wird in der Literatur häufig beschrieben. (Baader et al., 1978, Halama, 1980, Wenzlaff, 1981, Messerschmitt-Bölkow-Blohm GmbH, 1981)

2.1.5. Betriebssysteme

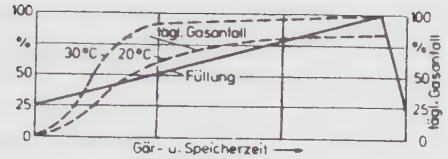
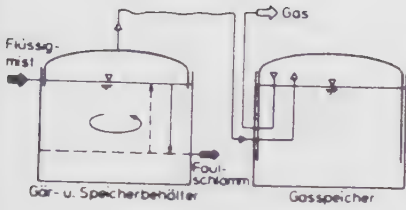
2.1.5.1. Diskontinuierliche Anlagen

Bei den Speichersystemen wird die tägliche Güllemenge in einen Faulraum eingebracht und bis zur Weiterverwendung dort gespeichert. Ungünstig sind die hierzu notwendigen großen Gärbehälter, lange Faulzeiten und die nicht vollständige Ausnutzung des Gaspotentials. Vorteilhaft ist dagegen die Möglichkeit zur Verwendung vorhandener Bauvolumina wie z.B. eines Güllesilos unter dem Stall. (Wenzlaff, 1981) (s. Abb. 4a)

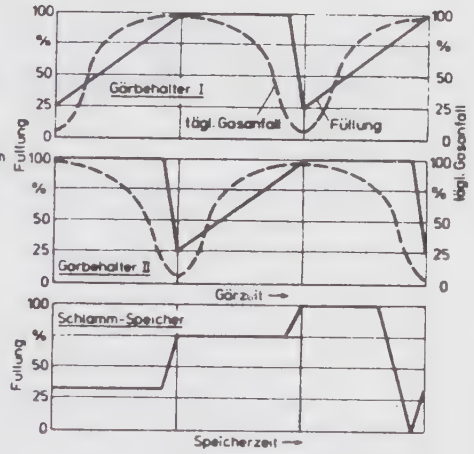
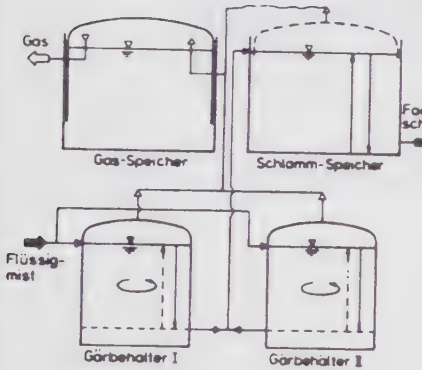
Bei den Wechselbehältersystemen werden zwei oder mehr Kammern im Wechsel gefüllt und auch geleert, so daß eine relativ gleichmäßige Gasausbeute erfolgt. Nachteilig sind auch hier die große Bausubstanz und der hohe Arbeitsaufwand, dafür können aber auch trockensubstanzreiche oder faserige Stoffe vergoren werden. (Wenzlaff, 1981, Fachinformationszentrum Energie, Physik, Mathematik GmbH, 1981) (s. Abb. 4b)

2.1.5.2. Kontinuierliche Anlagen

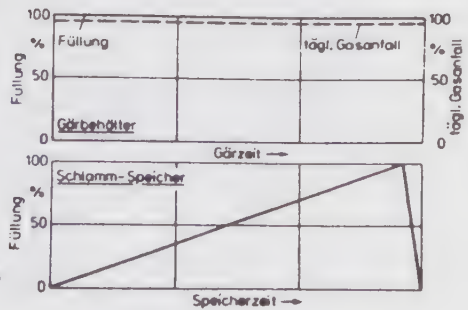
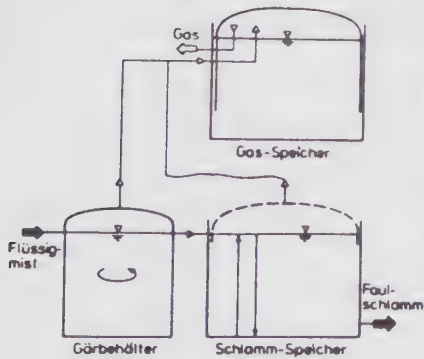
Das heutige Standardsystem ist das Durchflußsystem, bei dem täglich ein- oder mehrmals Substrat eingespeist wird bei gleichzeitigem Abzug der entsprechenden Menge Faulschlamm. Vorteile sind die hohe Gasausbeute bei nahezu konstantem Gasstrom sowie das geringe Behältervolumen. Inzwischen findet man eine Vielzahl von Bautypen auf dem Markt und in der Weiterentwicklung. (Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 1982) (s. Abb. 4c und 5)



a.



b.



c.

Abb. 4 : Betriebssysteme von Biogasanlagen nach Baader, 1978

- a) Speichersystem
- b) Wechselbehältersystem
- c) Durchflusssystem

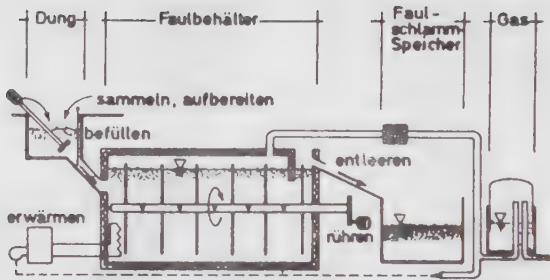


Abb.5 : Bauelemente einer Durchflußbiogasanlage nach Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, 1982

2.1.6. Kläranlage

Ein Teil des vorliegenden Schrifttums bezieht sich auf die Untersuchung von Faulschlamm aus Kläranlagen. Mit dem Schlamm aus der ersten mechanischen und der zweiten biologischen Reinigungsstufe werden etwa 95% der Krankheitserreger aus dem Abwasser entfernt und somit das hygienische Problem auf den Schlamm verlagert. (Roediger, 1971)

Heute wird in den Kläranlagen dieser Schlamm üblicherweise in einem Faulraum stabilisiert, der im Prinzip dem Faulraum einer Biogasanlage vergleichbar ist. (s. Abb. 6)

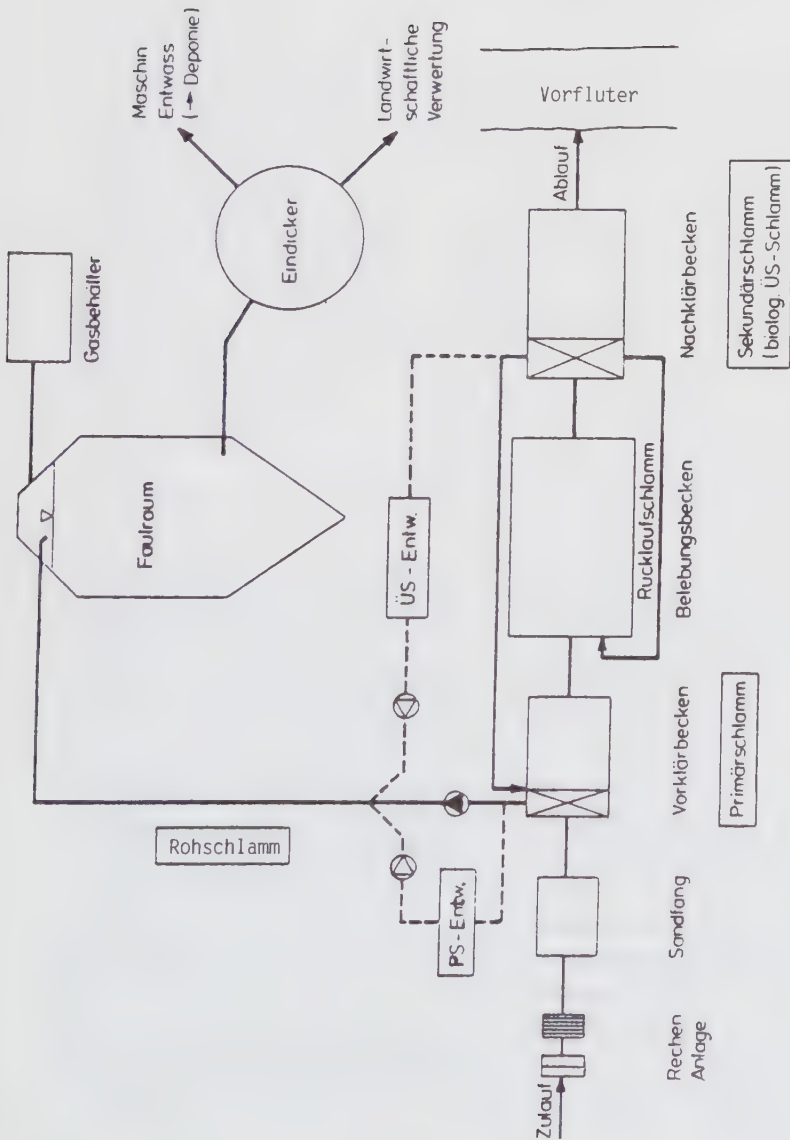


Abb.6 : Fließschema einer mechanisch-biologischen Kläranlage mit Schlammbehandlung nach Kapp, 1981

2.2. Hygienisierung von Klärschlamm und Gülle durch Ausfäulung

Die Auffassung über die hygienische Bedenklichkeit von ausgefauletem Schlamm änderte sich über die Jahre hinweg grundlegend. Dies ist nicht nur auf technische Fortschritte in Konstruktions- und Verfahrensweisen bei Biogas- bzw. Kläranlagen sowie auf wirtschaftliche Zwänge zurückzuführen, sondern auch auf die laufende Verfeinerung der mikrobiellen Nachweisverfahren, welche zu einer Verbesserung der Untersuchungsergebnisse führt (Brunner, 1952).

Im Jahr 1941 berichtet Viehl in seinen "Untersuchungen über Schlammfäulung", daß "die Gefahr der Seuchenübertragung bei Verwendung von Faulschlamm sehr stark vermindert ist." Er zitiert Wolman mit dessen Empfehlung von 1925, aus seuchenhygienischen Gründen nur Schlamm an Landwirte abzugeben, der mindestens 10 Tage gefault hat.

Stokes, Jones, Mohun und Miles weisen 1945 auf die Unzulänglichkeit der bestehenden bakteriologischen Methoden bei der Untersuchung einer gemischten Flora hin und betonen, daß Versuchsergebnisse nur qualitativen, nicht aber quantitativen Charakter haben können. Sie erwähnen, daß ihnen kein Bericht aus Europa und den USA über den Ausbruch einer ernstzunehmenden Darminfektion bekannt ist, der definitiv auf die Handhabung von Klärschlamm oder auf Nahrungsmittel von schlammgedüngten Feldern zurückzuführen ist.

In einem Experiment mit faulendem Klärschlamm beobachten die Autoren, daß die Gesamtkeimzahl allmählich abnimmt, so daß die Reduzierung von *Salmonella typhimurium* annähernd parallel zu derjenigen der gesamten Flora verläuft(s.2.3.). Obwohl ihre Untersuchungen zeigen, daß pathogene Keime die Ausfäulung auch in großer Zahl überstehen können, erscheint den Autoren das gesundheitliche Risiko bei normalem Abwasserschlamm gering, da dieser vergleichsweise kleine Mengen solcher Bakterien enthält.

McLachlan hebt schon 1949 hervor, daß die Schlamm- Ausfäulung nicht entwickelt wurde, um das Endprodukt unschädlich oder ungefährlich zu machen. Dies sei lediglich ein positiver Nebeneffekt, auf den immer mehr Wert gelegt werde.

Liebmann (1950) bemerkt bei seinen Untersuchungen im Lunzer Untersee, daß in einem Medium, in dem sich Methanbakterien in größerer Zahl befinden, alle anderen Mikroorganismen, Bakterien wie Protozoen, an Art und Zahl auffallend stark zurücktreten. Er schreibt den Methanbakterien demnach eine "gewisse biologische Ausschließlichkeit" zu, ohne allerdings den Grund zu kennen. Jedenfalls hatten Nikitinsky und Mudrezowa-Wyss bereits 1930 nachgewiesen, daß das Methan für alle von ihnen untersuchten "Wasserorganismen" ungiftig ist.

Nach Laborversuchen mit Salmonellen in Abwasserschamm (s.auch 2.3) zieht Liebmann den Schluß, daß ausgeaster Schlamm bezüglich seines Gehaltes an pathogenen Bakterien ohne hygienische Bedenken als Dünger verwendet werden kann.

Ahrens hingegen zeigt 1956 mit seinen Versuchen (s.auch 2.3), daß die Salmonellen unter Praxisbedingungen die bei der Methangasgewinnung üblichen Gärzeiten ohne Schädigung ihrer biologischen und morphologischen Eigenschaften überstehen können und folgert daraus, daß der Dünger seine Infektiosität nicht verloren hat.

Müller weist bereits 1954 darauf hin, daß Abwasserschamm bei den in Kläranlagen üblichen mesophilen Temperaturen von 15 - 35°C mindestens 6 Monate ausfaulen und anschließend noch mindestens 6 Monate getrocknet werden muß, um eine möglichst weitgehende Abtötung der Krankheitserreger zu erreichen. Er warnt vor dem Mischen von faulendem mit frischem Schlamm, da hierbei manche schädliche Organismen durch die Faulräume hindurchgeschleust werden können.

Harmsen (1955) äußert sogar gegen die Schlammverregnung stärkste hygienische Bedenken, da die Lebensdauer der im Schlammpartikel geschützten Keime wesentlich verlängert ist.

Strauch zieht schließlich 1964 das Resümee, daß die alkalische Schlammfaulung nicht in der Lage ist, den Schlamm von allen pathogenen Keimen zu befreien. "Es muß daher bei allen Schlämmen aus mesophil arbeitenden Faultürmen immer mit dem Vorhandensein von Krankheitserregern gerechnet werden."

1965 drücken es Strauch und Knoll noch drastischer aus : "Unter den gegenwärtigen Verhältnissen ist in hygienischer Sicht kein entscheidender Unterschied zwischen einem Faul- und einem Frischschlamm zu machen." Beide enthalten "Krankheitserreger aller Art in großen Mengen, wobei es auf die vielleicht vorhandenen geringfügigen quantitativen Unterschiede wirklich nicht mehr ankommt." Diese Feststellung bezieht sich auf die Tatsache, daß es schon zu dieser Zeit in den meisten Kläranlagen nicht mehr möglich ist, Ausfallzeiten von 8 Wochen oder mehr einzuhalten.

Auch Roediger (1967) berichtet, daß mit einer vollständigen Abtötung oder Schädigung aller im Faulschlamm unerwünschten Organismen nicht mit Sicherheit gerechnet werden kann, ist aber der Meinung, daß bei der anaeroben alkalischen Schlammfäulung Krankheitserreger zumindest in ihrer Lebensfähigkeit stark beeinträchtigt werden können. Auf jeden Fall schreibt er der Beheizung von Faulräumen eine Verbesserung der keimschädigenden Wirkung zu.

Müllers Untersuchungen (1967) zeigen deutlich, daß die Flora des beheizten Faulraumes einen wesentlichen Einfluß auf das Absterben der Salmonellen haben muß. In der bakterienfrei filtrierten Faulschlammflüssigkeit können 83 Tage lang keine Stoffe nachgewiesen werden, die in der Lage sind, Salmonellen im Wachstum zu hemmen oder gar abzutöten. In einem stark keimhaltigen Filtrat jedoch sind die Salmonellen nach spätestens 15 Tagen nicht mehr nachweisbar.

Poch und Hänske fassen 1968 zusammen, daß die pathogenen Keime neben der Temperatur und der Beeinflussung durch die übrige Mikroflora noch weiteren Faktoren ausgesetzt sind, die Spezifika der Fäulung darstellen, nämlich Ablauf der Methangärung im schwach alkalischen Bereich, Konzentration des Ammoniak-Stickstoffes über 1000 mg/l und die antimikrobielle Wirkung des Harns auf viele pathogene und andere Mikroorganismen.

Müller und Strauch stellen 1968 abschließend fest, daß in Kläranlagen durch die laufende Einspeisung und Durchmischung von frischem mit bereits faulendem Schlamm vorhandene Krankheitserreger immer im Abfallschlamm zu finden sind, da Fallzeit im gebräuchlichen Sinn und tatsächliche Verweildauer nicht identisch sind.

Baader, Dohne und Brenndörfer (1978) berichten auch bei kontinuierlichen Biogasanlagen über die Möglichkeit, daß kleine Schlamm-mengen den Faulraum vor der angegebenen Faulzeit verlassen, weshalb nach derzeitigen Kenntnissen nicht sämtliche pathogenen Keime abgetötet werden. Bei diskontinuierlichen Anlagen muß die Ausfau-lung nach Auffassung der Autoren bei 30°C mindestens 30 Tage dau-ern, um eine weitgehende Abtötung der vegetativen Formen bakteriel-ler Infektionserreger zu erreichen.

Stutzer erwähnt 1980 immerhin eine "Teilsterilisation des Düngers" durch die Biogasproduktion, die bei Rinderdung 70 % der Keime be-trägt und bei Geflügeldung wegen der höheren biologischen Aktivi-tät noch niedriger liegen soll. Leider finden sich hierzu keine genaueren Angaben, beispielsweise über Verweilzeit oder Temperatur-bereich.

Nach Philipp (1981) muß man jedoch bei der Ausbringung von Faul -schlamm einer Biogasanlage auf landwirtschaftliche Nutzflächen mit einer Infektionsgefahr rechnen, wenn auch in Anlagen von Einzelbe-trieben selten eine Konzentrierung pathogener Agentien stattfindet.

Wenzlaff (1980) hingegen meint, daß der Effekt der Hygienisierung durch die Biogasproduktion im Detail noch nicht bewertbar ist, da bisher konkrete Meßergebnisse fehlen. Auf keinen Fall sollte damit eine Wirtschaftlichkeit herbeigeredet werden.

Auch Strauch weist 1981 darauf hin, daß über die Desinfektion von Gülle in Biogasanlagen noch keine gezielten Untersuchungen vorlie-gen. Der übliche mesophile Bereich von ca. 28 - 35°C allein bewirkt nach Strauch normalerweise keine Abtötung von Krankheitserregern, eine Unterstützung durch bestimmte biochemische Prozesse hält er jedoch für möglich.

2.3. Vorkommen und Verhalten von Salmonellen während der Ausfäulung von Klärschlamm und Gülle

Aus seuchenhygienischen Gründen ist bisher das Vorkommen und Verhalten von Salmonellen in Klärschlamm und später auch in Gülle während der anaeroben alkalischen Schlammfäulung am häufigsten untersucht worden. Gerade auf diesem Gebiet zeigt sich bei Durchsicht der Literatur, daß nach anfänglich recht sorgloser Beurteilung des Faulschlammes im Laufe der Zeit mit der gezielten Untersuchung der tatsächlichen Gegebenheiten unter Praxisbedingungen die Sachlage sehr viel kritischer eingeschätzt wird. Wegen der großen Zahl von Literaturzitaten zu diesem Thema wird zu deren Wiedergabe (wie bei Müller, 1967) eine möglichst knappe und stichwortartige Darstellung in Form einer Tabelle gewählt. (Tab. 1)

2.4. Vorkommen und Verhalten von Escherichia coli und verwandten coliformen Keimen während der Ausfäulung von Klärschlamm und Gülle

Auch das Vorkommen und Verhalten von Escherichia coli bzw. der coliformen Keime während der anaeroben Ausfäulung ist bereits untersucht worden, wenngleich in der Literatur häufig nur kurze Hinweise im Rahmen teilweise anders ausgerichteter Versuchsanordnungen erteilt werden.

So beobachtet Brunner 1950 sozusagen als Nebenergebnis ihrer Salmonellen-Untersuchung (s.auch 2.3), daß auch E.coli und Enterobacter (Aerobacter) aerogenes die Klärschlammfäulnis überdauern, ohne ihre charakteristischen Stoffwechselleistungen einzubüßen.

McKinney, Langley und Tomlinson (1958) finden bei vergleichenden Keimzählungen in frischem Klärschlamm 200×10^4 E.coli/ml. Bereits nach 6-tägiger Ausfäulung bleiben nur noch 5×10^4 E. coli nachweisbar, aber bei weiteren Probeziehungen nach 8-, 10-,

Tab. 1 : Zusammenstellung der Angaben verschiedener Autoren zur Überlebensdauer von Salmonellen in Klärschlamm und Gülle

Untersucher (Autor/Jahreszahl)	Untersuchungsmaterial (Art bzw. Herkunft)	Überlebens- dauer	nachgewiesene Keimarten
Wolman, 1924 (bei Rudolfs, 1950)	anaerobe Ausfäulung von Klärschlamm	7 Tage	S. typhi
Ruchhoft, 1934 (bei Viehl, 1941)	aufgespeicherter Belebtschlamm bei 20°C bei 10 - 15°C	bis 14 Tage 29 - 83 Tage	S. typhi S. typhi
Heukelekian, Schulhoff 1935 (bei Viehl, 1941)	Schlammfäulversuche	ca. 3 Tage	S. typhi
Stokes et al., 1945	ausgefäulter Klärschlamm bei 26°C	45 Tage	S. typhimurium
Liebmann, 1950	ausgefäulter Abwasserschläm	3 - 4 Wochen	S. paratyphi B S. enteritidis
Brunner, 1952	Faulkammer einer Kläranlage, Jahresdurchschnitt 12°C	18 Wochen 20,5 Wochen	S. typhimurium S. enteritidis
Brunner, 1953	Faulkammer einer Kläranlage, 24 - 32°C, pH 7,2 - 7,8	6 Wochen	S. enteritidis
Poch, Häske, 1954	ausgefäulte Rindergülle, 32°C	über 20 Tage " "	S. typhi S. paratyphi B S. enteritidis

Tab. 1 : Fortsetzung

Untersucher (Autor/Jahreszahl)	Untersuchungsmaterial (Art bzw. Herkunft)	Überlebens- dauer	nachgewiesene Keimarten
Pohl, 1955 (bei Müller, 1967)	Faulschlamm aus Kläranlagen	56 Tage	S. paratyphi B S. typhimurium S. newport S. kottbus S. senftenberg
Scheffer et al., 1955	Faulschlamm, 28°C	10 Tage	S. typhi
Ahrens, 1956	ausgefaulter Klärschlamm	36 Tage	S. paratyphi B
		3 Wochen	S. typhi
		max. 3 Monate	S. paratyphi B
Popp, 1956	ausgefaulter Klärschlamm	5 Monate	S. anatum
(bei Müller, 1967)	Faulschlamm aus beheiztem Faulraum	30 Tage	S. paratyphi B
		"	S. anatum
		42 Tage	S. heidelberg
	Faulschlamm aus unbeheiztem Faulraum	120 Tage	S. paratyphi B
		"	S. anatum
McKinney et al., 1958	faulender Klärschlamm, nach einmaliger Zugabe von S. typhi bei dauernder Zugabe	nach 12 Stunden noch 0,3 - 17% nach 6 Tagen 16% nach 20 Tg. 7,6%	S. typhi S. typhi

Tab. 1 : Fortsetzung

Untersucher (Autor/Jahreszahl)	Untersuchungsmaterial (Art bzw. Herkunft)	überlebensdauer und Vorkommen	nachgewiesene Keimarten
Köser, 1960	72 Frischschlammproben aus einem Abwasserband 27 Faulschlammproben	33x = 45,8% 25x = 92,5%	Salmonellen "
Popp, 1967	102 Proben aus frischem Klärschlamm 35 Proben aus Faulschlamm	29x = 28% 11x = 31,4%	Salmonellen "
Müller, 1967	Faulschlamm, 17°C, pH 6,6 - 7,6 in beheiztem Faulraum, im Durchschnitt 30 - 35°C, 10 Versuche	155 Tage " " " " " 10 - 27 Tage 10 - 30 Tage 6 - 22 Tage 7 - 22 Tage 7 - 22 Tage	S. enteritidis S. typhimurium S. paratyphi B S. cairo S. anatum S. manchester S. enteritidis S. typhimurium S. paratyphi B S. cairo S. gallinarum- pullorum S. anatum S. manchester
	8 Versuche	10 - 30 Tage 10 - 30 Tage	

Tab. 1 : Fortsetzung

Untersucher (Autor/Jahreszahl)	Untersuchungsmaterial (Art bzw. Herkunft)	Überlebensdauer und Vorkommen	nachgewiesene Keimarten
Müller, Strauch, 1968 Hess, Lott, 1974 (bei Strauch, Baader, Tietjen, 1977) Munch, Schlundt, 1983	unbeheizter Faulraum einer Kläranlage, 10 - 18°C, pH 7,0 - 7,9 41 Proben aus frischem Klärschlamm 125 Proben aus Faulschlamm Labor: Bestimmung der Dezymierungszeit T90 Klärschlamm, 33°C, Einspeisung stündlich Rindergülle, 35°C, gespeichert Rindergülle, 33°C, Einspeisung alle 24 Std.	bis zu 11 Monaten 38x = 92,7% 111x = 88,8%	Salmonellen Salmonellen "
Willinger, Thiemann, 1983	Labor, 32°C: in faulender Rindergülle Geflügelgülle Rinder- mit Schweinegülle Rinder- mit Geflügelgülle Schweinegülle Schweine- mit Geflügelgülle	2 - 3 Tage 2 - 4 Tage 3 - 4 Tage 21 Tage " " " 28 Tage "	S. typhimurium " " " S. typhimurium " " "

15- sowie 20-tägiger Ausfäulung liegen die Keimzahlen noch in diesem Bereich.

Roediger erwähnt 1967 ohne genauere Angaben, daß sich durch den Faulprozeß die Zahl der coliformen Keime bis auf etwa 0,2 % verringert.

Popp berichtet 1967, daß in frischem Klärschlamm ca. $10^7 - 10^8$ E.coli/g zu finden sind, bei ausgefautem und getrocknetem Schlamm dagegen nur $10^2 - 10^4$ E.coli/g.

Temper, Steiner, Winter und Kandler (1981) geben in einem Laborversuch über die Methangärung mit Schlachthofabfällen bei 35°C pro milliliter Schlamm 2×10^7 E.coli zu und finden nach drei Stunden immer noch 2×10^7 Keime, nach 20 Stunden 1×10^4 E.coli.

Nach Munch und Schlundt (1983) beträgt die Dezimierungszeit T_{90} bei der Ausfäulung von Klärschlamm (33°C, stündliche Einspeisung) für E.coli 08 einen Tag, bei der Ausfäulung von Rindergülle (33°C, Einspeisung alle 24 Stunden) für E.coli 078 ebenfalls einen Tag. Generell geben die Autoren bei der Ausfäulung von Gülle bei 33 - 35°C für die fäkalen E.coli als T_{90} 2,5 - 5,5 Tage an, für die pathogenen E.coli 1 - 2 Tage.

Zum Thema "Antibiotika- Resistenz" weisen Fontaine und Hoadley (1976) nach, daß bei der Passage durch eine Kläranlage der Gesamtprozentsatz an Resistenzen bei coliformen Keimen sich nicht verändert, die Mehrfachresistenzen (3 - 7fach) aber abnehmen. Die Autoren zeigen in einem Laborversuch mit Krankenhaus - und kommunalem Abwasser die Möglichkeit auf, daß Antibiotika - Resistenz von coliformen Keimen auf E.coli und Salmonella cholerae-suis unter bestimmten Bedingungen übertragbar ist.

Bell untersucht 1978 coliforme Keime aus Abwasser, das der Behandlung in einer belüfteten Lagune unterzogen wird, und beobachtet, daß sich auch in diesem Fall der Gesamtprozentsatz der Resistenzen nur geringfügig verändert. Nach Bell kommt es in dem belüfteten Becken nicht zur Ausbreitung, sondern eher zum Verlust der Antibiotika - Resistenzen, weil anscheinend die Chance des Zusammentreffens geeigneter Bakterien aufgrund der geringen Populationsdichte im Abwasser gering ist.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. MATERIAL UND METHODEN

3.1.1. Art und Herkunft des Untersuchungsmaterials

Zur Untersuchung kamen jeweils Frischgülle - und Faulschlammproben, und zwar insgesamt 86 Proben aus zehn verschiedenen Betrieben.

Die Mehrzahl der Proben stammte aus zwei Betrieben, nämlich 30 Proben aus der Biogasanlage (I), die Gülle von Mastbullen vergärt, und 30 Proben aus der Biogasanlage (X), die Gülle von Rindern vermischt mit Pflanzenabfällen umgesetzt. Während bei der ersteren Anlage durch wiederholte Entnahmen innerhalb eines Zeitraumes von drei Monaten geprüft werden sollte, ob eventuell äußere Einflüsse wie z.B. Futterwechsel oder Witterung zu unterschiedlichen Ergebnissen im Keimgehalt führen, wurde bei der letzteren durch Entnahme von jeweils drei Proben zum gleichen Zeitpunkt an einer zu diesem Zweck eingebauten Durchlaufschleuse überprüft, ob gegebenenfalls trotz Durchmischung des Reaktorinhaltes Differenzen im Keimbesatz bestehen.

In einem Zeitraum von viereinhalb Monaten wurden noch viermal Proben in einer anderen Biogasanlage (II) gezogen, die mit Gülle von Mastbullen betrieben wird. Das weitere Probenmaterial stammte aus Betrieben mit Zuchtsauen- bzw. Mastschweinehaltung (V,VI) oder Legehennenhaltung (VII,VIII,IX). Bei zwei Betrieben (III,IV) wurde in die Biogasanlage Gülle von Zuchtsauen und Rindern vermischt eingespeist.

In dem Betrieb (I), von welchem im geringsten Abstand wiederholt Proben von Frischgülle und Faulschlamm zur Untersuchung gelangten, wurde einmal von den Mastbullen auch Kot genommen, um das Vorkommen von R-Faktoren bei *Escherichia coli* und verwandten coliformen Keimen in den Faeces mit denjenigen von Frischgülle und Faulschlamm vergleichen zu können. Diese Proben wurden im Monat Juli gezogen, in dem weiterhin jeweils Frischgülle- und Faulschlammproben von zwei Entnahmetagen vor der mikrobiologischen Untersuchung miteinander vermischt wurden. Zugleich sollte durch die ergänzende Untersuchung

Tab.2: Angaben über den Zeitpunkt der Probenziehungen von Frischgülle und Faulschlamm in den zehn Betrieben und die sich anschließenden Untersuchungen

Betrieb Nr.	Tag der Probeentnahme	Keimzahl- bestimmungen	Untersuchung auf Salmonellen	Isolierung für Antibiotogramme	
				E.coli und coliforme Keime direkt	ergänzend Proteus spp.
I	19.4.	x	x		
	26.4.	x	x		
	29.4.	x	x		
	3.5.	x	x		
	10.5.	x	x		
	17.5.	x	x		
	24.5.	x	x	x	
	7.6.	x		x	
	14.6.	x		x	
	21.6.	x		x	
	28.6.	x	x		
	1.+ 5.7.	x	x	x	x
	8.+12.7.	x	x	x	x
	15.+19.7.	x	x	x	x
	5.11.		x	x	x

Tab. 2 : Fortsetzung

Betrieb Nr.	Tag der Probeentnahme	Keimzahlbestimmungen	Untersuchung auf Salmonellen	E.coli und coliforme Keime direkt	Isolierung für Antibiotogramme ergänzend Proteus spp. nach Anreicherung
II	28.4.	x	x		
	23.6.	x	x		
	13.7.	x	x	x	x
	13.8.	x	x	x	x
III	13.8.	x	x	x	
IV	13.8.	x	x	x	
V	13.8.	x	x	x	
VI	27.4.	x	x		
	22.6.	x	x		
	13.7.	x	x	x	x
VII	17.8.	x	x	x	
VIII	25.8.	x	x	x	
IX	25.8.	x	x	x	

Tab. 2 : Fortsetzung

Betrieb Nr.	Tag der Probeentnahme	Keimzahl- bestimmungen	Untersuchung auf Salmonellen	Isolierung für Antibiogramme	
				E.coli und coliforme Keime direkt	ergänzend Proteus spp.
X	6.9.	x	x	x	x
	6.9.	x	x	x	x
	6.9.	x	x	x	x
	20.9.	x	x	x	x
	20.9.	x	x	x	x
	20.9.	x	x	x	x
	25.10.	x	x	x	x
	25.10.	x	x	x	x
	25.10.	x	x	x	x
	2.11.	x	x	x	x
	2.11.	x	x	x	x
	2.11.	x	x	x	x
	8.11.	x	x	x	x
	8.11.	x	x	x	x
	8.11.	x	x	x	x

von 30 Kotproben kontrolliert werden, ob die Mastbullen Salmonellen mit ihren Faeces ausscheiden.

3.1.2. Probeziehung

Frischgülle wurde aus dem Zulauf der Biogasanlagen und Faulschlamm aus den Sammelbehältern des Endproduktes der Ausfäulung mit einem Schöpfer entnommen. Mehrere Schöpfkellen (Fassungsvermögen ca. 50 ml) des jeweiligen Materials wurden zunächst in einem Eimer vermischt und davon eine Probe (ca. 100 ml) für die eigenen Untersuchungen abgezweigt. Der Rest des Untersuchungsmaterials diente der Bestimmung der Trockensubstanz, des pH-Wertes und anderer für die Funktion der Anlagen aussagekräftiger Parameter und wurde von anderen am Projekt beteiligten Untersuchern durchgeführt.

Der Kot für die Vergleichsuntersuchungen (s. 3.1.1.) wurde den Mastbullen rektal mit Hilfe von sterilen Wattetupfern entnommen.

Über die Daten der Probeentnahmen von Frischgülle und Faulschlamm in den zehn Betrieben und die sich jeweils daran anschließenden Untersuchungen gibt Tabelle 2 näher Auskunft.

3.1.3. Keimgehaltsbestimmungen

Zur Bestimmung der Lebendkeimzahl der mesophilen aerobensowie fakultativ anaeroben Bakterien wurden jeweils 10 ml Frischgülle bzw. Faulschlamm in 250 ml-Schraubflaschen mit 90 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung gegeben und ca. 20 Minuten lang geschüttelt. Aus diesem Ansatz wurden weitere Verdünnungen im Verhältnis 1 : 10 hergestellt und von den Verdünnungsstufen 10^{-3} bis 10^{-6} jeweils 0,1 ml auf der Oberfläche einer Nährbodenschale mit Fleischextrakt-Pepton-Agar (Oxoid CM 55) mit und ohne Zusatz von 7% sterilem, defibriniertem Hammelblut mit einem abgeflamten Drygalskispatel verteilt (Oberflächenverfahren nach Gedek, 1974).

Die Bebrütung der Platten mit Blutzusatz wurde 48 Stunden lang bei

37°C vorgenommen, die der Platten ohne Blutzusatz bei Zimmertemperatur auf vier Tage ausgedehnt.

Die Auszählung erfolgte jeweils bei der Verdünnungsstufe, bei welcher die Kolonienzahl nicht weniger als 20 und nicht mehr als 200 betrug. Durch Multiplikation der gezählten Kolonien mit dem Faktor der Verdünnung des Ausgangsmaterials wurde die jeweilige Keimzahl pro Milliliter Frischgülle bzw. Faulschlamm ermittelt und diese anschließend logarithmiert tabellarisch festgehalten (Logarithmus 10).

Zur Erfassung des Anteils fakultativ pathogener gramnegativer Stäbchenbakterien wurden - von der gleichen Verdünnungsreihe ausgehend - jeweils auch noch 0,1 ml der Verdünnung 10^{-2} bis 10^{-5} von Frischgülle und der Verdünnung 10^{-1} bis 10^{-4} von Faulschlamm auf zwei Selektivnährböden verimpft. Es handelte sich dabei um Violet-Red-Bile-Agar (Oxoid CM 107) und Wasserblau-Metachromgelb-Lactose-Agar nach Gaßner (Oxoid CM 1002). Die Platten wurden jeweils 48 Stunden bei 37°C bebrütet, die Keimzahlen wie oben bereits beschrieben ermittelt und logarithmiert.

Zur Feststellung, ob Hefen und Schimmelpilze nicht nur in den Fäces landwirtschaftlicher Nutztiere, sondern auch noch in Frischgülle und Faulschlamm lebensfähig vorkommen und in welchen Keimzahlen sie gegebenenfalls darin anzutreffen sind, wurde des weiteren noch Sabouraud-Glucose 2%-Agar (Merck 7315, mit Zusatz von 400.000 IE Penicillin und 40 mg Streptomycin/l) mit jeweils 0,1 ml des verdünnten Untersuchungsmaterials der Stufen 10^{-1} bis 10^{-3} beschickt. Um eine Differenzierung bei der Auszählung der auf diesem Substrat entwickelten Kolonien nach Zugehörigkeit zu den Hefen einerseits und den Schimmelpilzen andererseits vornehmen zu können, wurden die Platten 4 Tage lang bei Zimmertemperatur bebrütet und dann erst ausgewertet. Falls nur ein geringes Wachstum auf den Platten zu verzeichnen war, mußte bei der Keimzählung zuweilen auch von einer geringeren Zahl als von 20 Kolonien ausgegangen werden, um nicht nur eine qualitative, sondern auch eine quantitative Aussage machen zu können. In Fällen, in denen das makroskopische Bild der Kolonien

keine Zuordnung gestattete, wurden Nativpräparate angefertigt und je nach der im Mikroskop festzustellenden Sporenformen die Differenzierung vorgenommen.

3.1.4. Selektionsverfahren zum Nachweis von Salmonellen

Die Untersuchung von Frischgülle und Faulschlamm auf Salmonellen erfolgte nach der IAG-Methode, die ursprünglich für den Nachweis dieser Keime in Futtermitteln entwickelt worden ist und sich hierbei bewährt hat (Seydel, 1982 u.a.).

Zur Voranreicherung wurden jeweils 2 x 25 ml Frischgülle bzw. Faulschlamm in Schraubflaschen mit 225 ml sterilem Peptonwasser ¹⁾ abgefüllt, 20 Minuten lang geschüttelt und 20 bis 24 Stunden lang mit nur leicht aufgeschraubtem Verschuß bei 37°C bebrütet.

Aus jeder Schraubflasche wurden zur 1. Hauptanreicherung jeweils 10 ml in eine Glasflasche mit 50 ml Tetrathionat-Bouillon nach Müller-Kauffmann (Oxoid CM 343) sowie noch einmal 10 ml in eine Glasflasche mit 50 ml Selenit-Bouillon übertragen, die Gläser mit Alufolie verschlossen, kurz geschwenkt und 18 - 20 Stunden lang bei 37°C bebrütet.

Am Tag darauf wurden aus jedem dieser Gläser zur 2. Hauptanreicherung wiederum 10 ml in die analoge Bouillon, also 50 ml Tetrathionat- bzw. 50 ml Selenit-Bouillon übertragen, die Gläser mit Alufolie verschlossen und kurz geschwenkt. Bei den in den Monaten April bis Juli durchgeführten Untersuchungen handelte es sich bei der Selenit-Bouillon um Selenit-Cystin-Anreicherungsbouillon (Merck 7709), später bis Ende November um Selenit-Anreicherungsbouillon nach Leifson (Merck 7717).

Nach 6 - 8stündiger Bebrütung bei 37°C erfolgte eine Überimpfung auf feste Nährböden unter Anwendung des Dreiösenausstriches zur Erzielung von Einzelkolonien, und zwar je Ansatz auf eine Platte

1) Peptonwasser: 10 g Pepton aus Fleisch, tryptisch verdaut (Merck 7214), 5 g NaCl, 9 g Na₂HPO₄, 1,5 g KH₂PO₄, 1000ml Aqua dest.

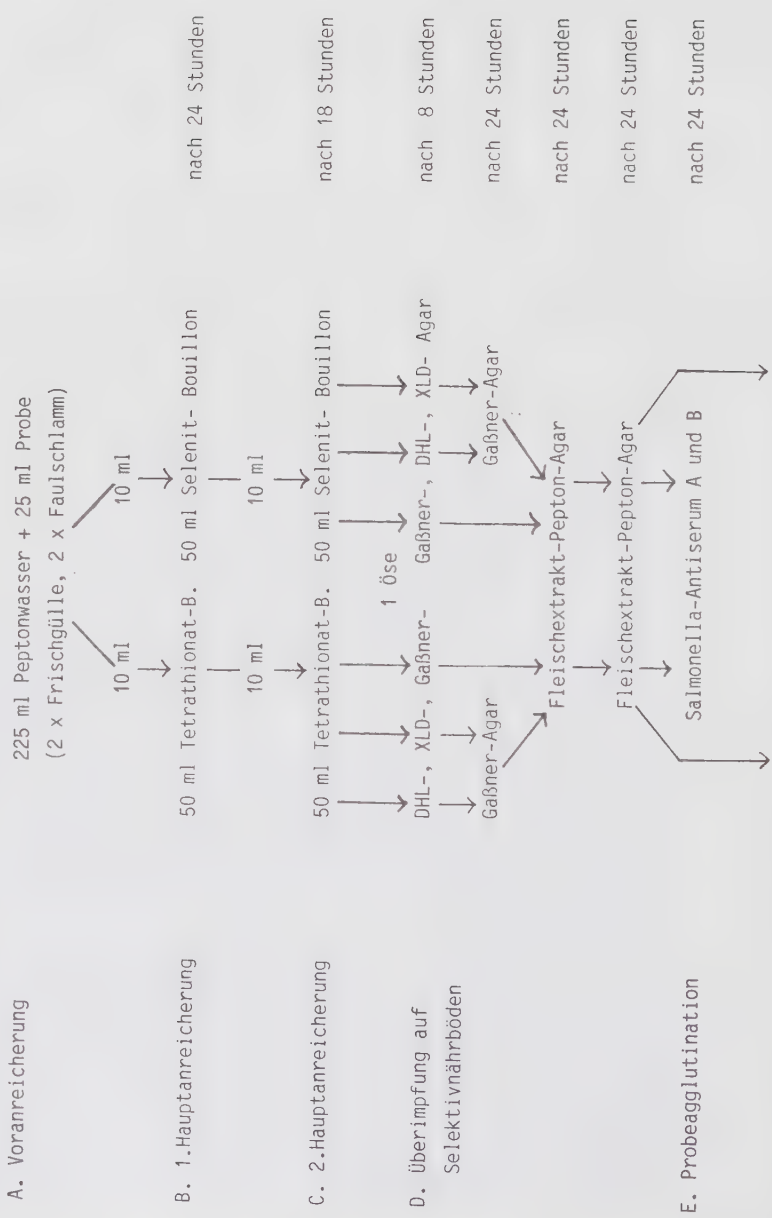
mit Desoxycholate-Hydrogen-Sulfide-Lactose-Agar nach Sakazaki (Merck 11435), Xylose-Lysin-Desoxycholate-Agar (Merck 5287) und Wasserblau-Metachromgelb-Lactose-Agar nach Gaßner (Oxoid CM 1002). Nach einer Bebrütung von 24 Stunden bei 37°C kamen die Gaßnerplatten zunächst zur Aufbewahrung in den Kühlschrank, von den DHL- und XLD-Platten wurden dagegen Salmonellen-verdächtige Kolonien wiederum unter Anwendung des Dreißenausstriches auf Gaßner-Agar überimpft und abermals 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Im Anschluß daran erfolgte die Beurteilung aller Gaßner-Platten.

Bei Vorliegen Salmonellen-verdächtigter Kolonien wurden diese abermals passagiert und durch zweimaliges Anlegen von Subkulturen auf Fleischextrakt-Pepton-Agar (Oxoid CM 55) angestrebt, Reinkulturen zu erhalten. Schließlich wurde serologisch überprüft, ob die Salmonellen-verdächtigen Keime zur Gattung *Salmonella* gehören.

Hierzu wurden die Kolonien zunächst einer Probeagglutination mit Salmonellen-Antiserum A und B unterzogen, wobei auf einen Objektträger je 1 Tropfen Antiserum A und B sowie 1 Tropfen sterile physiologische Kochsalzlösung gegeben und jeweils mit einem Teil der Kolonie bis zur milchigen Trübung verrieben wurden. Durch Schwenken des Objektträgers kommt es bei der Vermischung von Antigen und Antiserum im positiven Fall zu einer schnellen und deutlichen Agglutination (bewertet als 4+), die Kochsalzprobe bleibt negativ. Bei entsprechendem Testergebnis, vor allem aber auch bei undeutlicher Agglutination (verlängerter Reaktionszeit oder unvollständiger Aufklärung des trüben Tropfens, bewertet als 2+ oder 3+) erfolgte eine ergänzende biochemische Prüfung mit dem Enterotube-II-Roche (Hoffmann-La-Roche 07/3162/5) auf eine Zugehörigkeit zur Gattung *Salmonella*.

Im Anschluß daran wurden die als positiv bewerteten Kolonien nochmals auf Fleischextrakt-Pepton-Agar überimpft, um für die erneute serologische Testung Kolonien zu erhalten, die nicht länger als ca. 20 Stunden bei 37°C bebrütet worden waren. Die Objektträger-schnellagglutination wurde nunmehr mit den einzelnen monovalenten Testseren (Anti-O und Anti-H) vorgenommen. In zwei Fällen mußte bei einem diphasischen Stamm zur Differenzierung der Keime ein Schwärmagar unter Zugabe von 5-7 Tropfen des positiven H-Testse-

Abb. 7 : Arbeitsschema zur Verarbeitung von Frischgülle- und Faulschlammproben zum Nachweis von Salmonellen

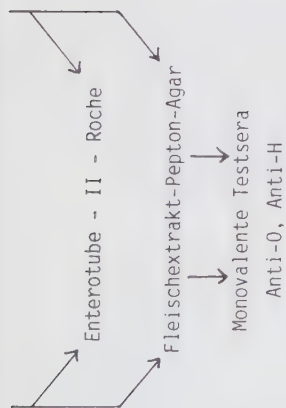


F. Biochemische

Differenzierung

G. Überimpfung auf

H. Typendifferenzierung



nach 1 Stunde

nach 24 Stunden

nach 24 Stunden

rums zur Unterdrückung dieser Phase hergestellt werden. Die im einzelnen erforderlichen Arbeitsschritte gibt das Schema in Abb.7 wieder.

3.1.5. Isolierung und Identifizierung anderer Enterobacteriaceae für die Ermittlung ihrer Ansprechbarkeit gegenüber Chemotherapeutika

Keime, die aufgrund ihres koloniemorphologischen Verhaltens auf den zur Erfassung des Anteils fakultativ anaerober gramnegativer Stäbchenbakterien beimpften Nährböden vermutlich *Escherichia coli*, verwandten coliformen Keimen wie *Klebsiella*, *Enterobacter* oder anderen laktosespaltenden Keimen zuzuordnen waren, wurden isoliert und hinsichtlich ihrer Zugehörigkeit zu den Enterobacteriaceae biochemisch mit Hilfe von Enterotube-II-Roche (Hoffmann-La-Roche 07/3162/5) überprüft.

Verschiedentlich waren von *E. coli* und anderen laktosespaltenden, fakultativ anaeroben gramnegativen Stäbchenbakterien oftmals weniger als 10 Einzelkolonien je Probe nachweisbar, die Zahl der auf Ansprechbarkeit gegenüber Chemotherapeutika zu testenden Vertreter sollte jedoch nicht zu gering sein, um als repräsentativer Querschnitt angesehen werden zu können. Deshalb erfolgte bei einem Teil der Faulschlamm-Proben eine Voranreicherung in einem flüssigen, zur Selektion von *E.coli* und verwandten coliformen Keimen geeigneten Medium, der Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung (Oxoid CM 31).

Nach 18stündiger Vorkultur in diesem Medium wurde eine Öse (=20µl) der Anreicherungsbouillon auf die festen Nährmedien zur selektiven Anzüchtung von Enterobacteriaceae (s.o.) unter Anwendung des Dreißenausstriches zur Erzielung von Einzelkolonien übertragen. Bei der Isolierung und Identifizierung wurde in entsprechender Weise unter Anwendung des Direktverfahrens vorgegangen (s.o.).

Die Isolate wurden zunächst wie die Kulturen der Stammsammlung zur Konservierung auf Fleischextrakt-Pepton-Agar (Oxoid CM 55) überführt und bis zur Testung bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

3.1.6. Empfindlichkeitsprüfung von Escherichia coli und
verwandten coliformen Keimen sowie von Proteus spp.
gegenüber Chemotherapeutika

Insgesamt 893 Isolate von E.coli und verwandten coliformen Keimen und 100 Isolate von Proteus spp. aus Frischgülle und Faulschlamm der Biogasproduktion wurden auf ihre Ansprechbarkeit gegenüber fünf Antibiotika und zwei synthetischen Chemotherapeutika getestet, denen gegenüber die Enterobacteriaceae von landwirtschaftlichen Nutztieren sich heutzutage hauptsächlich als resistent erweisen. Über die Herkunft der Isolate geben die Tab. 2 und 4 näheren Aufschluß.

Vergleichsweise wurden von einem Betrieb (I) auch E.coli-Stämme (85 Isolate) mitgetestet, die aus dem Kot der gleichen Mastbulen isoliert worden waren, von denen auch die Gülle stammte. Die Testung auf Empfindlichkeit gegenüber den insgesamt sieben Chemotherapeutika erfolgte mit dem Plattendiffusionsverfahren.

3.1.6.1. Durchführung des Plattendiffusionsverfahrens

Die im Kühlschrank aufbewahrten Isolate wurden hierfür zunächst in Standard-I-Bouillon (Merck 7882) überimpft und durch Anlegen einer Subkultur auf Fleischextrakt-Pepton-Agar (Oxoid CM 55) die Reinheit des Stammes überprüft. Von einer Einzelkolonie wurde wiederum Material in Standard-I-Bouillon überimpft und diese 18 Stunden lang bei 37°C bebrütet. Im Anschluß daran wurde die Bouillonkultur 1 : 1 mit steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und eine Öse (= 20 µl) für den Test auf der Oberfläche einer Iso-Sensitest-Agar-Platte (Oxoid CM 471) ausgespatelt. Das Auflegen der Antibiotika- und Sulfonamid-Testblättchen (s. Tab.3) erfolgte mit einem 6-armigen Disc Dispenser, das 7. Testblättchen wurde jeweils mit einer Pinzette in die Mitte der Platte

aufgelegt. Nach 1 Stunde Aufbewahrung bei Zimmertemperatur zur besseren Diffusion der Chemotherapeutika in das Agarmedium kamen die Platten für 18 Stunden in einen Brutschrank bei 37°C, anschließend wurden die Durchmesser der Hemmhöfe in Millimeter gemessen und protokolliert.

3.1.6.2. Interpretation der Antibiotogramme

Über die im einzelnen getesteten Chemotherapeutika gibt Tabelle 3 Aufschluß, der auch die Einstufung der Keime als "resistent" bzw. "sensibel" entnommen wurde. Als Bewertungsgrundlage dienten die hierfür von NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) und DIN (Deutsches Institut für Normung e.V.) vorliegenden Bewertungsgrenzen.

Tab.3 : Interpretation der Hemmhöfe unter Zugrundelegung der Bewertungsgrenzen nach NCCLS bzw. DIN

Chemotherapeutikum	μg bzw. E/disc *	Bewertung als	
		resistent $\varnothing$ in mm	empfindlich $\varnothing$ in mm
Ampicillin	25	≤ 16	≥ 17
Chloramphenicol	30	≤ 16	≥ 18
Furazolidon	50	≤ 16	≥ 17
Kanamycin	30	≤ 18	≥ 19
Streptomycin	25	≤ 15	≥ 16
Sulfonamide	300	≤ 10	≥ 11
Tetracyclin	30	≤ 18	≥ 19

* Hersteller Oxoid Deutschland GmbH, Wesel/Rh.

Tab. 4: Anzahl der getesteten Isolate von *Escherichia coli* und coliformen Keimen sowie von Keimen der Gattung *Proteus* aus Frischgülle und Faulschlamm

Herkunft der Gülle, aufgeschlüsselt nach Tierarten	Escherichia coli und coliforme Keime aus			Keime der Gattung <i>Proteus</i> aus	
	Frischgülle	Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung	Frischgülle	Faulschlamm ohne Anreicherung
Rinder	108	108	72	44	36
Rinder + Schweine	14	16	24		
Schweine	24	10	24	10	10
Geflügel	34	21	24		
Rinder + Pflanzen- abfälle	116	148	150		
Σ	296	303	294	54	46

3.2.

ERGEBNISSE UND DEREN BESPRECHUNG

Den Ergebnissen der Untersuchung von 43 Frischgülle- und 43 Faulschlammproben aus zehn verschiedenen Betrieben liegen jeweils Doppelbestimmungen zugrunde, da zumindest die Lebendkeimzahlen von Bakterien insgesamt und der jeweilige Anteil an coliformen Keimen stets unter Verwendung von zwei unterschiedlichen Nährböden ermittelt wurden und auch bei der Durchführung des Anreicherungsverfahrens zur Erfassung von Salmonellen jede Probe mit zwei Parallelansätzen überprüft wurde.

Im einzelnen wurden dabei die folgenden Resultate erzielt.

3.2.1.

Quantitative Untersuchungsbefunde von Frischgülle und Faulschlamm

Mesophile aerobe bzw. fakultativ anaerobe Bakterienarten sind innerhalb der Darmflora gegenüber strikten Anaerobiern in der Regel unterrepräsentiert. Zuweilen handelt es sich bei den mit den Faeces von Tieren ausgeschiedenen Spezies nur um mit der Nahrung aufgenommene Passanten des Verdauungstraktes (Rolle und Mayr, 1978). Diese Arten gelten jedoch als besonders widerstands- und anpassungsfähig, so daß nicht zuletzt zu dieser Gruppe von Mikroorganismen eine Reihe von Krankheitserregern zählt. Solche Keime treten bei Faktorenkrankheiten besonders hervor und schädigen den Makroorganismus hauptsächlich durch ihre Toxine. Da die Entfaltung einer krankmachenden Wirkung in enger Korrelation zur Keimzahl steht, in der sie auftreten, ist eine Reduzierung ihrer Anzahl im Faulschlamm unter Umständen auch schon als positiv einzustufen, wenn eine vollständige Abtötung durch die mikrobiellen Fermentationsprozesse der Biogasgewinnung unter Einwirkung mesophiler Temperaturen nicht zu realisieren ist.

3.2.1.1. Lebendkeimzahl mesophiler aerober bzw. fakultativ anaerober Bakterien

Fleischextrakt-Pepton-Agar mit und ohne Blutzusatz gewährleistet erfahrungsgemäß die Erfassung aller mesophiler aerober bzw. fakultativ anaerober Bakterienarten, die im Verdauungstrakt landwirtschaftlicher Nutztiere entweder als Kommensalen oder als Passanten vorkommen und mit den Faeces ausgeschieden werden. Es gehören dazu Vertreter verschiedener Gattungen der Enterobacteriaceae sowie Pseudomonadaceae, Micrococcaceae, Streptococcaceae und Bacillaceae, denen auch das für die optimale Entwicklung der Methanbakterien erforderliche leicht alkalische Milieu in der Gülle zuträglich ist (Rolle und Mayr, 1978). Mit Ausnahme von Betrieb I lagen die mittleren pH-Werte von Frischgülle in den neun diesbezüglich überprüften Betrieben zwischen 7,0 und 8,0; im Faulschlamm wurden einheitlich um einige Zehntel höhere pH-Werte gemessen. Grundsätzlich wurden geringere Keimgehalte an vermehrungsfähigen Bakterien im Faulschlamm als in der Frischgülle festgestellt. Bei Zusatz von Blut zum Nährboden wurden nicht regelmäßig höhere Keimzahlen ermittelt, was dafür spricht, daß es sich bei den erfaßten Keimarten im wesentlichen um die weniger anspruchsvollen Vertreter der oben genannten Keimgruppen handelte.

Jahreszeitliche Unterschiede sowie Verweildauer und Temperatur im Reaktor schienen keinen Einfluß auf die Höhe der Keimzahlen pro Milliliter Faulschlamm zu haben (s. Tab. 5-8).

In der Frischgülle von Geflügel lagen die Keimzahlen /ml um eine Zehnerpotenz höher als in der Frischgülle von Rind oder Schwein. Die geringste Reduktion in den Keimzahlen (und zwar unterhalb einer Zehnerpotenz/ml) war beim Faulschlamm festzustellen, wenn Gülle vom Rind unvermischt (Betrieb I+II), oder vermischt mit Schweinegülle (Betrieb III+IV) bzw. mit Pflanzenabfällen (Betrieb X) umgesetzt wurde (s. Tab. 6-8).

Da im Faulschlamm von Geflügel dagegen eine Reduktion um mehr als zwei Zehnerpotenzen/ml zu verzeichnen war, wurden in der ausgefaulten Gülle von Rind und Geflügel annähernd gleiche

Tab. 5 : Betriebsdaten der Biogasanlagen

Betrieb	Tierart- u.zahl	Anlage	Faulraum in m³	Gärtempera- tur in °C	Mischinten- sität/24 h	Gülleinga- be/24 h	Verweildauer in d
I : Staatl. Versuchs- güterverwaltung Grub, 8011 Poing	Mastbullen 70 GVE	Lipp	63	33	48 x	1-2 x	ca. 21
II : M. Heindl, Ederhof Arnstorferstr. 4 8353 Altenmarkt	Mastbullen 120 GVE	BVT-Mahnal	280	29	3 x	3 x	36
III : A. Hölzlwimmer Wipfelsberg 108 8261 Reischach	Milchvieh + Zuchtsauen 50 GVE	BVT-Mahnal	140	32	3 x	2 x	35-45
IV : A. Reinhard Im Galgenberg 8358 Vilshofen	Rinder + Zuchtsauen 70 GVE	Lipp	63	18-20	8 x	8 x	21
V : O. Greifenstein Breitfeldweg 9 8351 Aholming	Zuchtsauen + Ferkel 30 GVE	BVT-Mahnal	70	32	3 x	2 x	30

Tab. 5 : Fortsetzung

Betrieb	Tierart- u.zahl	Anlage	Faulraum in m³	Gärtempera- tur in °C	Mischinten- sität/24 h	Güllecinga- be/24 h	Verweildauer in d
VI : M.Wallner Schulstr.8 8031 Gilching	Mastschweine 60 GVE	Eigenbau	100	35	1 x	2 x	35
VII : W.Möhler Muthof 7119 Forchtenberg	Legehennen + Junghennen 240 GVE	FIMA	160	35	gleichmäßig	2 x	ca.25
VIII : L.Szabo Thanweiler 7967 Bad Waldsee	Legehennen 183 GVE	GAE	147	35	ca.2 x	1 x	30
IX : K.Hofmeier Viehbrunnenweg 3 7730 Tannheim	Legehennen 60 GVE	GAE	150	35	3 x	2 x	18
X : W.Schraufstetter Mayerbachstr. 67 8045 Ismaning	Rinder 700-1000 GVE +Pflanzenabfälle	Messerschmitt- Bölkow-Blohm	2x500	35	-	4-10 x	5-10

Tab. 6 : Lebendkeimzahlen der mesophilen aeroben bzw. fakultativ anaeroben Bakterien frischer und aus-
gefaulter Gülle von Mastbullen (1) unter Angabe betriebstechnischer Daten

Betrieb	Verweil- dauer im Reaktor	Tempera- tur im Reaktor	Frischgülle $\log_{10}$ / ml B (2)		pH	Faulschlamm $\log_{10}$ / ml B	
			A			A	
I : 19.4. (1)	ca. 21 d	33°C	8,1	8,3	7,4	7,0	7,0
26 4.			8,3	8,3	7,1	7,0	7,1
29.4.			8,8	8,5	7,1	7,8	7,3
3.5.			8,9	8,6	7,1	7,2	7,2
10.5.			8,7	9,4	7,4	7,3	7,0
17.5.			8,3	8,0	7,4	7,2	6,9
24.5.			8,5	8,4	7,1	7,5	7,3
7.6.			8,1	8,0	7,7	7,5	7,7
14.6.			8,6	8,7	7,1	7,2	7,7
21.6.			8,8	8,7	7,1	7,4	7,5
28.6.			8,7	8,8	6,8	7,3	7,5
1.+ 5.7.			8,7	8,8	7,1	7,7	7,6
8.+12.7.			9,3	9,6	7,1	8,0	7,9
15.+19.7.			8,9	8,8	7,1	7,7	7,7
	$\bar{x}$		8,6	8,6	7,2	7,4	7,4
			(6,5 - 7,1)	(8,1 - 9,3)	(6,8 - 7,4)	(7,0 - 8,0)	(6,9 - 7,9) (3)

(1) : Tag der Probeziehung

(2) : A = Fleischextrakt-Pepton-Agar ohne Blutzusatz

B = Fleischextrakt-Pepton-Agar mit Blutzusatz

(3) : Keimzahlbereich

Tab. 7 : Lebendkeimzahlen der mesophilen aeroben bzw. fakultativ anaeroben Bakterien frischer und aus-
gefaulter Gülle von Mastbullen (II), Rindern und Schweinen (III,IV), Schweinen (V,VI) sowie
von Geflügel (VII,VIII,IX) unter Angabe betriebstechnischer Daten

Betrieb	Verweil- dauer im Reaktor	Tempera- tur im Reaktor	Frischgülle		pH	Faulschlamm	
			A	B (2)		A	B
II : 28.4. 23.6. 13.7. 13.8.	ca. 36 d	29°C	7,3	8,7	7,7	8,2	7,9
			7,5	8,3	8,0	7,9	7,8
			7,7	8,4	7,9	7,8	7,5
			7,9	8,6	7,8	7,6	7,6
			$\bar{x}$ 7,6	8,5	7,9	7,9	7,7
III : 16.8. ⁽¹⁾ IV : 16.8.	35-45 d 21 d	32°C 18-20°C	8,6	8,7	7,6	7,1	7,0
			7,9	8,1	7,7	7,7	7,6
			8,2	8,4	7,7	7,4	7,3
V : 16.8. VI : 29.4. 22.6. 13.7.	30 d 35 d	32°C 35°C	8,8	9,0	8,0	7,1	6,1
			8,2	8,2	7,8	6,8	6,9
			8,3	8,3	8,2	6,7	7,0
			8,5	8,3	7,9	6,4	6,8
			$\bar{x}$ 7,5	8,5	8,0	6,8	6,7
VII : 17.8. VIII : 25.8. IX : 25.8.	25 d 30 d 18 d	35°C 35°C 35°C	9,4	9,6	8,2	7,3	7,7
			9,2	9,7	8,3	6,7	6,9
			9,8	9,9	8,1	7,7	7,7
			$\bar{x}$ 9,5	9,7	8,2	7,2	7,4

(1) : Tag der Probeziehung

(2) : A = Fleischextrakt-Pepton-Agar ohne Blutzusatz, B = Fleischextrakt-Pepton-Agar mit Blutzusatz

Tab. 8 : Lebendkeimzahlen der mesophilen aeroben bzw. fakultativ anaeroben Bakterien frischer und ausgefallener Gülle von Rindern vermisch mit Pflanzeneinfällen (X) unter Angabe betriebstechnischer Daten

Betrieb	Verweildauer im Reaktor	Temperatur im Reaktor	log ₁₀ der Keimzahlen / ml Frischgülle		Faulschlamm	
			A	B	A	B (2)
X : 6.9. (1)	5-10 d	35°C	7,8	8,4	7,0	7,1
6.9.			7,8	8,3	7,5	7,4
6.9.			7,9	8,6	7,0	8,8
20.9.			8,2	8,2	7,3	7,4
20.9.			8,2	8,1	7,1	7,5
20.9.			8,4	8,3	6,5	7,4
25.10.			7,9	8,0	6,9	7,4
25.10.			7,9	7,9	7,0	7,4
25.10.			8,0	8,1	7,1	7,5
2.11.			8,0	8,2	6,7	7,3
2.11.			7,6	8,1	7,5	7,6
2.11.			8,0	8,4	6,6	7,3
8.11.			7,7	7,9	7,4	7,6
8.11.			7,8	8,0	7,1	7,4
8.11.			8,0	8,0	7,3	7,5
		$\bar{x}$	7,9	8,2	7,1	7,5
			(7,6 - 8,4)	(7,9 - 8,6)	(6,5 - 7,5)	(7,1 - 8,8) (3)

(1) : Tag der Probeziehung

(2) : A = Fleischextrakt-Pepton-Agar ohne Blutzusatz

B = Fleischextrakt-Pepton-Agar mit Blutzusatz

(3) : Keimzahlbereich

Werte an noch lebensfähigen Keimen ermittelt. Im Falle der Verwendung von Schweinegülle als Substrat für die Biogasproduktion fiel die Keimreduktion im Vergleich zur Verwendung von Rindergülle höher und von Geflügelgülle geringer aus, denn die Differenz betrug hier $\log_{10} > 1,0 - < 2,0$. Zugleich waren die Werte unter 10 Mill. Keime pro Milliliter Faulschlamm abgesunken.

Bei der mehrfachen Probeziehung am gleichen Tag, aber an unterschiedlichen Stellen des Systems (Betrieb X) ergaben sich mit einer einzigen Ausnahme (3. Probe Faulschlamm vom 6.9., Tab. 8) weitgehend übereinstimmende Werte in den Keimzahlen lebensfähiger Bakterien.

3.2.1.2. Anzahl lebensfähiger E.coli und verwandter coliformer Keime

Auf Violet-Red-Bile-Agar und Wasserblau-Metachromgelb-Lactose-Agar nach Gaßner wurden von E.coli und verwandten coliformen Keimen annähernd gleiche Lebendkeimzahlen ermittelt, wenn es sich um das gleiche Probenmaterial handelte. Prinzipiell befand sich die Keimzahl/ml Frischgülle dieser Bakterien in Übereinstimmung mit den Werten, die von Untersuchungen der Faecalflora landwirtschaftlicher Nutztiere bekannt sind (Haenel, 1960, u.a.).

E.coli und coliforme Keime werden vom Rind im Durchschnitt in Keimzahlen von 1 Mill. ($\log_{10} 6,0$), vom Schwein 10 Mill. ($\log_{10} 7,0$) und 100 Mill. ($\log_{10} 8,0$) vom Geflügel pro Gramm Faeces ausgeschieden.

Da im Faulschlamm dagegen unabhängig von der tierartlichen Herkunft übereinstimmende Werte an noch lebensfähigen Keimen dieser Kategorie anzutreffen waren, bedeutet dies, daß die Ausfäulung der Gülle von Rindern die Keime nur um 1-2 Zehnerpotenzen, von Schweinen aber um 3 und von Geflügel sogar fast um 4 Zehnerpotenzen pro Milliliter reduziert (s. Tab. 9-11).

Es verbleibt ein Restgehalt von einigen Tausenden bis Zehntausenden/ml Faulschlamm an E.coli und coliformen Keimen.

Tab. 9 : Anzahl coliformer Keime in frischer und ausgefaulter Gülle von Mastbullen (1)

Betrieb	log ₁₀ der Keimzahlen / ml			
	Violet-Red-Bile-Agar		Gassner-Agar	
	Frischgülle	Faulschlamm	Frischgülle	Faulschlamm
I : 19.4. (1)	5,9	3,8		
26.4.	5,2	3,4	5,3	2,6
29.4.	5,3	3,3	6,4	2,3
3.5.	5,9	4,7	4,9	3,3
10.5.	5,6	5,0	5,5	3,6
17.5.	4,4	4,1	4,5	4,0
24.5.	5,8	4,3	6,1	3,6
7.6.	5,0	4,4	5,0	3,7
14.6.	5,9	4,3	6,0	4,8
21.6.	6,1	5,6	5,0	3,5
28.6.	5,0	4,4	6,0	3,6
1.+5.7.	6,0	4,3	5,9	3,8
8.+12.7.	6,7	5,0	6,5	4,0
15.+19.7.	6,6	5,1	6,4	4,6
	$\bar{x}$ 5,7	4,4	5,7	3,6
	(4,4 - 6,7)	(3,3 - 5,6)	(4,5 - 6,5)	(2,3 - 4,8) (2)

(1) : Tag der Probenziehung

(2) : Keimzahlbereich

Tab. 10 : Anzahl coliformer Keime in frischer und ausgefaulter Gülle von Mastbullen (II), Rindern und Schweinen (III, IV), Schweinen (V, VI) sowie von Geflügel (VII, VIII, IX)

Betrieb	$\log_{10}$ der Keimzahlen / ml			
	Violet-Red-Bile-Agar		Gassner-Agar	
	Frischgülle	Faulschlamm	Frischgülle	Faulschlamm
II : 28.4. 23.6. 13.7. 13.8.	5,0 6,9 6,0 <u>6,1</u> $\bar{x}$ 6,0	4,4 6,0 5,9 <u>4,4</u> 5,2	5,6 4,8 5,6 <u>5,8</u> 5,5	5,1 3,9 6,0 <u>3,6</u> 4,7
III : 16.8. (1)				
IV : 16.8.	6,7 5,7 <u>6,2</u> $\bar{x}$	4,3 5,7 <u>5,0</u>	6,8 5,8 <u>6,2</u>	4,0 5,0 <u>4,5</u>
V : 16.8.	7,7	4,0	7,6	4,0
VI : 29.4. 22.6. 13.7.	6,0 7,3 <u>6,8</u> $\bar{x}$ 7,0	3,1 5,2 <u>4,9</u> 4,3	6,3 7,3 <u>6,7</u> 7,0	2,6 4,2 <u>4,5</u> 3,8
VII : 17.8. VIII : 25.8. IX : 25.8.	7,9 7,7 <u>8,4</u> $\bar{x}$ 8,0	4,5 3,8 <u>5,0</u> 4,4	8,0 6,9 <u>8,6</u> 7,8	4,1 4,2 <u>4,6</u> 4,3

(1) : Tag der Probenziehung

Tab.11 : Anzahl coliformer Keime in frischer und ausgefallter Rindergülle, vermischt mit Pflanzenabfällen (X)

Betrieb	log ₁₀ der Keimzahlen / ml			
	Violet-Red-Bile-Agar		Gassner-Agar	
	Frischgülle	Faulschlamm	Frischgülle	Faulschlamm
X : 6.9. ⁽¹⁾	6,9	4,5	6,4	3,7
6.9.	6,5	4,2	6,2	3,7
6.9.	6,4	4,9	6,6	4,1
20.9.	5,9	4,5	5,5	3,6
20.9.	6,0	4,6	5,6	3,8
20.9.	6,0	5,0	5,8	4,0
25.10.	5,4	5,3	6,0	4,1
25.10.	6,3	4,7	6,0	4,1
25.10.	6,2	4,3	5,8	3,9
2.11.	6,1	3,9	6,1	3,8
2.11.	6,2	4,5	6,3	4,0
2.11.	6,4	3,9	6,5	3,8
8.11.	5,8	4,3	5,6	3,9
8.11.	5,8	4,5	5,6	3,8
8.11.	5,7	4,1	5,7	3,5
	$\bar{x}$ 6,1	4,5	6,0	3,9
	(5,4 - 6,9)	(3,9 - 5,3)	(5,5 - 6,6)	(3,5 - 4,1) ⁽²⁾

(1) : Tag der Probenziehung

(2) : Keimzahlbereich

3.2.1.3. Anzahl lebensfähiger Schimmelpilze und Hefen

Beim Nachweis der Anzahl lebensfähiger Schimmelpilze und Hefen in Frischgülle zeichnet sich deutlich der Einfluß des Vorkommens von Schimmelpilzen in der Nahrung ab. Infolge der Aufnahme eines relativ hohen Anteils an Rauhfutter lagen die Keimzahlen /ml in der Frischgülle vom Rind im Vergleich zum Schwein weit- aus höher (s. Tab. 12-14). Beim Geflügel zeigte sich stattdessen eine größere Streubreite in den Werten.

Im Faulschlamm waren Schimmelpilze verschiedentlich quantitativ nicht mehr erfaßbar, und zwar nicht nur in ausgefaulter Gülle von Schwein und Geflügel, sondern auch vom Rind (Sporenzahl $< 100/\text{ml}$). Hefen waren häufig bereits in der Frischgülle quantitativ nicht bestimmbar, im Faulschlamm konnten überhaupt nur drei Nachweise geführt werden, wobei die ausgefaulte Gülle jeweils vom Rind stammte (s. Tab. 12-14).

Im Vergleich zu den relativ einheitlichen Werten, die in den Lebendkeimzahlen von mesophilen aeroben bzw. fakultativ anaeroben Bakterien festgestellt wurden, lag bei den lebensfähigen Schimmelpilzen und Hefen durch eine unverhältnismäßig breite Streuung der Einzelwerte eine große Variabilität in den Befunden vor, die möglicherweise darauf zurückzuführen sein kann, daß Passanten nicht mit gleicher Regelmäßigkeit in den tierischen Exkrementen anzutreffen sind wie Kommensalen der Darmflora der Nutztiere (Haenel, 1960).

3.2.2. Qualitative Untersuchungsbefunde von Frischgülle und Faulschlamm sowie Kot

Neben Salmonellen sind E.coli und verwandte coliforme Keime geeignet für eine Bewertung der Hygienisierung von Abfallprodukten aus der industrialisierten Tierhaltung. Insofern ein Nachweis von Salmonellen im Probenmaterial nicht gelingt, können E.coli und coliforme Keime wegen ihrer in vielerlei Hinsicht

Tab.12 : Nachweis von Schimmelpilzen und Hefen in frischer sowie ausgefaulter Gülle von Mastbullen (I,II)

Betrieb	log ₁₀ bzw. Bereich der Keimzahlen (KBE) / ml auf Sabouraud- Glucose -Agar			
	Schimmelpilze		Hefen	
	Frishgülle	Faulschlamm	Frishgülle	Faulschlamm
I : 19.4. (1) 26.4. 29.4. 3.5. 10.5. 17.5. 24.5. 7.6. 14.6. 21.6. 28.6. 1.+ 5.7. 8.+ 12.7. 15.+ 19.7.	4,1	2,8	3,9	<2,0
	4,4	2,6	3,6	<2,0
	4,2	<2,0	4,4	<2,0
	4,1	2,5	3,7	<2,0
	4,0	2,6	3,3	<2,0
	3,8	2,3	<2,0	<2,0
	3,9	2,8	3,8	<2,0
	3,3	2,8	<2,0	<2,0
	3,3	<2,0	4,2	<2,0
	3,7	<2,0	<2,0	<2,0
	4,3	2,6	4,2	<2,0
	4,7	3,8	3,6	<2,0
	5,4	4,2	4,0	3,0
	5,0	4,3	5,1	<2,0
	3,3-5,4	<2,0-4,3	<2,0-5,1	<2,0-3,0
II : 28.4. 23.6. 13.7. 13.8.	4,1	3,0	3,6	2,3
	4,1	2,8	<2,0	<2,0
	3,9	3,3	<2,0	<2,0
	3,8	3,3	<2,0	<2,0
	3,8-4,1	2,8-3,3	<2,0-3,6	<2,0-2,3

(1) : Tag der Probeziehung

Tab. 13 : Nachweis von Schimmelpilzen und Hefen in frischer wie in ausgefallter Gülle von Rindern und Schweinen (III,IV), Schweinen (V,VI) sowie von Geflügel (VII,VIII,IX)

Betrieb	log ₁₀ bzw. Bereich der Keimzahlen (KBE) / ml auf Sabouraud- Glucose -Agar			
	Schimmelpilze		Hefen	
	Frischgülle	Faulschlamm	Frischgülle	Faulschlamm
III : 16.8. ⁽¹⁾	5,0	3,1	4,0	<2,0
IV : 16.8.	4,8	3,9	<2,0	3,0
	4,8-5,0	3,1-3,9	<2,0-4,0	<2,0-3,0
V : 16.8.	4,5	2,5	4,8	<2,0
VI : 29.4.	< 2,0	<2,0	3,6	<2,0
22.6.	4,0	<2,0	<2,0	<2,0
13.7.	4,4	<2,0	3,6	<2,0
	< 2,0-4,5	<2,0-2,5	<2,0-4,8	<2,0
VII : 17.8.	3,3	<2,0	<2,0	<2,0
VIII : 25.8.	4,0	4,4	<2,0	<2,0
IX : 25.8.	6,1	2,3	5,0	<2,0
	3,3-6,1	<2,0-4,4	<2,0-5,0	<2,0

(1) : Tag der Probeziehung

Tab. 14 : Nachweis von Schimmelpilzen und Hefen in frischer sowie ausgefallter Rindergülle, vermischt mit Pflanzenabfällen (X)

Betrieb	log ₁₀ bzw. Bereich der Keimzahlen (KBE) / ml auf Sabouraud- Glucose-Agar			
	Schimmelpilze		Hefen	
	Frischgülle	Faulschlamm	Frischgülle	Faulschlamm
X : 6.9. (1)	4,4	< 2,0	3,5	< 2,0
6.9.	4,2	< 2,0	3,7	< 2,0
6.9.	4,1	< 2,0	3,3	< 2,0
20.9.	4,0	< 2,0	3,6	< 2,0
20.9.	4,3	< 2,0	3,3	< 2,0
20.9.	3,9	< 2,0	3,6	< 2,0
25.10.	3,0	< 2,0	< 2,0	< 2,0
25.10.	3,8	3,3	< 2,0	< 2,0
25.10.	3,8	< 2,0	3,3	< 2,0
2.11.	3,3	< 2,0	2,8	< 2,0
2.11.	4,1	< 2,0	3,0	< 2,0
2.11.	3,7	< 2,0	3,0	< 2,0
8.11.	3,7	< 2,0	3,3	< 2,0
8.11.	3,8	2,3	3,3	< 2,0
8.11.	3,8	< 2,0	< 2,0	< 2,0
	3,0-4,4	< 2,0-3,3	< 2,0-3,7	< 2,0

(1) : Tag der Probeziehung

mit Salmonellen übereinstimmenden Eigenschaften in die Beurteilung mit einbezogen werden. Dazu gehört auch das Vorkommen von R-Faktoren bei diesen Keimen, da es sich hierbei um wechselseitig innerhalb gramnegativer Bakterienarten übertragbare genetische Information handelt, deren Pool nicht durch Verschleppung in andere Biotope vergrößert werden sollte (Gedek, 1980, 1981, 1982, Siebert, 1982).

3.2.2.1. Nachweis von Salmonellen

Bei der Untersuchung von 40 Frischgülle- und 40 Faulschlammproben (in toto 160 Anreicherungen) aus Biogasanlagen mit Verwertung der Gülle von Rind, Schwein und Geflügel (s. Tab. 2) konnten nur zwei der Salmonellen-verdächtigen Kolonien tatsächlich als der Gattung *Salmonella* zugehörig identifiziert werden. Die eine Kolonie entstammte einer Frischgülleprobe, die andere einer Faulschlammprobe des gleichen Betriebes, nämlich der Biogasanlage I, welche mit Gülle von Mastbullen betrieben wird und bei welcher die größte Anzahl von Proben (n=36) zur Untersuchung gelangte.

Beide Proben waren in Selenit-Bouillon angereichert worden, die erste (Entnahme 5.7.) in Selenit-Cystin-Bouillon, die zweite (Entnahme 19.7.) in Selenit-Anreicherungs-Bouillon nach Leifson, und beide Kolonien wurden von einer Platte mit Desoxycholate-Hydrogen-Sulfide-Lactose-Agar nach Sakazaki isoliert.

In beiden Fällen handelte es sich um eine Salmonellen-Kolonie der Gruppe D1 (09 positiv), z15 positiv. Eine genauere Identifizierung war nicht möglich, da bei der Anzüchtung auf Svengard-Agar selbst mit 8 Tropfen z15-Serum die erste Phase nicht unterdrückt werden konnte, eine Agglutination mit z15-Serum also noch möglich war.

In diesem Zusammenhang muß darauf hingewiesen werden, daß die Verläßlichkeit auf das Enterotube-II-Roche wie auch auf das Mikro-ID-System¹⁾, das in Ausnahmefällen zur Kontrolle herangezogen wurde, nur sehr begrenzt ist. Zum Beispiel erwies sich eine Kolonie, die nach dem Enterotube-II-Roche der Gattung *Salmonella* zuzuordnen war (Code-Nr.64140), bei der anschließenden Objektträgerschnellagglutination mit den einzelnen monovalenten Testseren eindeutig nicht als *Salmonelle*, andererseits ergab eine der beiden Kolonien, die sich hierbei zweifelsfrei als *Salmonelle* herausgestellt hatten, im Mikro-ID-System¹⁾ *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* bzw. *Shigella* (Code-Nr. 26031).

Bei allen anderen Proben konnte der Verdacht auf *Salmonellen* nach der biochemischen Differenzierung mit dem Enterotube-II-Roche bei der Überprüfung mit den einzelnen Testseren (Anti-O und Anti-H) nicht erhärtet werden.

Die ergänzende einmalige Untersuchung der Faeces von 30 Mastbullen des Betriebes I auf *Salmonellen* lieferte ein negatives Resultat, so daß die nicht näher bestimmbaren *Salmonellen* (s. o.) durchaus auch auf anderem Wege eventuell erst sekundär in die Biogasanlage gelangt sein können. Möglicherweise wurden sie in dem vom Tierkörper abweichenden Milieu so geschädigt, daß eine eindeutige serologische Differenzierung nicht gelang. Immerhin ist Gülle ein relativ aggressives Substrat, wodurch mutagene Veränderungen an der Bakterienzelle prinzipiell nicht auszuschließen sind.

3.2.2.2. Resistenzeigenschaften von E.coli und verwandten coliformen Keimen gegenüber Chemotherapeutika

Da sich bei Untersuchungen der Faecalflora landwirtschaftlicher Nutztiere *E.coli* und coliforme Keime in den letzten Jahren hauptsächlich gegenüber fünf Antibiotika und zwei synthetischen

1) General Diagnostics 9416930

Chemotherapeutika als resistent erwiesen haben (Gedek, 1980, 1981, 1982, Siebert, 1982) und sich bei sechs dieser Stoffe die Resistenz als plasmid-codiert erwiesen hat (Jacoby und Swartz, 1980), wurde die Ansprechbarkeit von Isolaten aus frischer und ausgefaulter Gülle gegenüber diesen insgesamt sieben Chemotherapeutika für überprüfenswert gehalten.

3.2.2.2.1.

Allgemeine Resistenzquoten

Dabei stellte sich heraus, daß entgegen der Feststellung von Resistenzeigenschaften bei Keimen der Faecalflora die Isolate aus Frischgülle zu einem höheren Prozentsatz (>10%) nur Tetracyclin- und Sulfonamid- Unempfindlichkeit zeigten (s. Tab. 15). Eine Resistenz mit <10% gegenüber den Aminoglykosiden Streptomycin und Kanamycin sowie gegenüber Ampicillin, Chloramphenicol und Furazolidon überrascht, weil die Quoten bei Isolaten aus der Faecalflora, betreffend die Resistenzen gegenüber Streptomycin, oftmals 80-90% und hinsichtlich Chloramphenicol, Ampicillin und Furazolidon nicht selten 20-30% betragen (Gedek, 1981, Siebert, 1982). Allerdings stammten die Proben größtenteils aus Betrieben mit Gülleverwertung von Mastbullen, bei welchen E.coli und coliforme Keime auch heute noch allgemein weniger unempfindlich gegenüber Chemotherapeutika sind als bei Kalb, Schwein und Mastgeflügel. Bei Berücksichtigung der Tierart, von welcher Frischgülle und Faulschlamm stammten, waren Differenzen beispielsweise dahingehend festzustellen, daß die Resistenzquoten bei den Isolaten aus Rindergülle (Tab.16 und 19), unvermischt und vermischt mit Pflanzenabfällen, gegenüber Tetracyclin, Sulfonamiden und auch gegenüber Ampicillin höher lagen als gegenüber den vier anderen getesteten Chemotherapeutika.

Tab. 15 : Allgemeine Resistenzquoten von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus allen untersuchten Proben gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika

Chemotherapeutikum	Resistenzquoten in %	
	Frischgülle ohne Anreicherung	Faulschlamm ohne Anreicherung
Tetracyclin	15,5	11,2
Streptomycin	3,4	6,9
Chloramphenicol	1,0	1,3
Ampicillin	5,4	5,6
Kanamycin	2,4	6,9
Sulfonamid	17,9	19,1
Furazolidon	4,1	1,3
Anzahl der geprüften Isolate	296	303
Zahl der Proben	31	30
		Faulschlamm mit Anreicherung
		19,7
		7,5
		4,4
		4,1
		5,4
		16,3
		5,1
		294
		27

Tab. 16 : Allgemeine Resistenzquoten von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Rindergülle (Mastbullen) gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika (Betrieb I, II)

Chemotherapeutikum	Resistenzquoten in %		
	Frischgülle ohne Anreicherung	Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
Tetracyclin	44,7	40,0	63,0
Streptomycin	2,1	16,7	11,1
Chloramphenicol	2,1	3,3	7,4
Ampicillin	36,2	21,7	7,4
Kanamycin	4,3	10,0	
Sulfonamid	51,1	46,7	66,7
Furazolidon	17,0	6,7	22,2
Anzahl der geprüften Isolate	108	108	72
davon resistent gegen- über einem oder mehre- ren Chemotherapeutika	47	60	27

Tab. 17 : Allgemeine Resistenzquoten von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Schweinegülle gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika (Betrieb V,VI)

Chemotherapeutikum	Frischgülle ohne Anreicherung	Resistenzquoten in %	
		Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
Tetracyclin	40,9	37,5	35,0
Streptomycin	72,7	75,0	100,0
Chloramphenicol	4,5	12,5	
Ampicillin	4,5	12,5	5,0
Kanamycin	4,5		
Sulfonamid	81,8	62,5	45,0
Furazolidon	18,2	12,5	15,0
Anzahl der geprüften Isolate	24	10	24
davon resistent gegen- über einem oder mehre- ren Chemotherapeutika	22	8	20

Tab. 18 : Allgemeine Resistenzquoten von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Geflügelgülle gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika (Betrieb VII, VIII, IX)

Chemotherapeutikum	Resistenzquoten in %		
	Frischgülle ohne Anreicherung	Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
Tetracyclin	80,0	71,4	28,6
Streptomycin	80,0	85,7	28,6
Chloramphenicol			14,3
Ampicillin			
Kanamycin	20,0		
Sulfonamid	80,0	28,6	14,3
Furazolidon	20,0		42,9
Anzahl der geprüften Isolate	34	21	24
davon resistent gegen- über einem oder mehre- ren Chemotherapeutika	5	7	7

Tab. 19 : Allgemeine Resistenzquoten von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Rindergülle, vermischt mit Pflanzenabfällen, gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika (Betrieb X)

Chemotherapeutikum	Resistenzquoten in %		
	Frischgülle ohne Anreicherung	Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
Tetracyclin	49,4	28,0	61,4
Streptomycin	7,6	17,1	28,1
Chloramphenicol	1,3	1,2	12,3
Ampicillin	12,7	8,5	15,8
Kanamycin	5,1	26,8	25,4
Sulfonamid	58,2	61,0	64,0
Furazolidon	3,8	3,7	7,9
Anzahl der geprüften Isolate	116	148	150
davon resistent gegen- über einem oder mehre- ren Chemotherapeutika	79	82	114

Die aus Faulschlamm ohne vorherige Anreicherung gezüchteten Keime erwiesen sich dann auch zu einem höheren Prozentsatz als unempfindlich gegenüber Streptomycin und Kanamycin. Nach Anreicherung traten im Faulschlamm zudem noch Keime stärker hervor, die Furazolidon- und Chloramphenicol-resistent waren.

Isolate aus Frischgülle von Schweinen waren dagegen höher resistent gegenüber Tetracyclin, Streptomycin, Sulfonamiden und Furazolidon.

Die Faulschlamm-Isolate ohne vorherige selektive Anreicherung waren stattdessen gegenüber Tetracyclin, Sulfonamiden und Furazolidon geringer unempfindlich, dafür aber höher resistent gegenüber Ampicillin und Chloramphenicol. Bei vorheriger Anreicherung erwiesen sich die Faulschlamm-Isolate von Schweinen hauptsächlich als Streptomycin-resistent und gleichzeitig weniger unempfindlich gegenüber allen anderen getesteten Chemotherapeutika (s.Tab.17).

Bei Isolaten aus frischer und ausgefaulter Gülle von Geflügel lagen die Verhältnisse wiederum anders, wie aus Tabelle 18 zu ersehen ist.

3.2.2.2. Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz bzw. Empfindlichkeit

Fast die Hälfte der insgesamt 893 getesteten Isolate erwies sich als sensibel gegenüber den sieben in die Empfindlichkeitsprüfung einbezogenen Chemotherapeutika, was wiederum damit zusammenhängen kann, daß die Mehrzahl der Isolate aus frischer oder ausgefaulter Gülle von Rindern stammte, bei denen R-Faktoren in der Darmflora nicht so zahlreich vorkommen wie bei anderen Nutztierarten (Gedek,1980). Da die resistenten Isolate aus Frischgülle und Faulschlamm (ohne vorherige Anreicherung) hauptsächlich nur gegenüber ein bis zwei Stoffen resistent waren, ergab sich daraus eine durchschnittlich unter 1,0 liegende Anzahl an Resistenzdeterminanten pro Isolat.

Tab.20 : Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz bzw. Empfindlichkeit von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus allen untersuchten Proben gegenüber verschiedenen Chemotherapeutika

resistent	Frischgülle ohne Anreicherung	Angaben in %	
		Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
siebenfach			0,3
sechsfach	0,3		0,7
fünffach		0,7	1,4
vierfach	1,4	1,7	3,7
dreifach	5,7	3,3	15,0
zweifach	15,6	9,8	12,9
einfach	29,2	36,4	27,2
sensibel	47,8	48,1	38,8
$\bar{x}$ der Resistenzdeterminanten / Isolat	0,8	0,8	1,3
Anzahl der geprüften Isolate	296	303	294

Tab. 21 : Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz bzw. Empfindlichkeit von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Rindergülle (Mastbullen) gegenüber verschiedenen Chemotherapeutika (Betrieb I,II)

resistent	Frischgülle ohne Anreicherung	Anzahl der Isolate	
		Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
siebenfach			
sechsfach			
fünffach		1	
vierfach	1	3	2
dreifach	8	3	5
zweifach	9	8	5
einfach	28	45	15
sensibel	62	48	45
$\bar{x}$ der Resistenzdeterminanten / Isolat	0,7	0,8	0,7
Isolate, insgesamt	108	108	72

Tab. 22 : Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz bzw. Empfindlichkeit von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Schweinegülle gegenüber verschiedenen Chemotherapeutika (Betrieb V, VI)

resistent	Frischgülle ohne Anreicherung	Anzahl der Isolate	
		Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
siebenfach			
sechsfach	1		
fünffach		1	1
vierfach	1		
dreifach	4	2	5
zweifach	12	1	7
einfach	4	4	7
sensibel	2	2	4
$\bar{x}$ der Resistenzdeterminanten / Isolat	2,1	1,7	1,5
Isolate, insgesamt	24	10	24

Tab. 23 : Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz bzw. Empfindlichkeit von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Geflügelgülle gegenüber verschiedenen Chemotherapeutika (Betrieb VII, VIII, IX)

resistent	Frischgülle ohne Anreicherung	Anzahl der Isolate	
		Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
siebenfach			
sechsfach			
fünffach			
vierfach	1		
dreifach	2	1	
zweifach	2	4	2
einfach		2	5
sensibel	29	14	17
$\bar{x}$ der Resistenzdeterminanten / Isolat	0,4	0,6	0,4
Isolate, insgesamt	34	21	24

Tab. 24 : Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz bzw. Empfindlichkeit von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Rindergülle, vermischt mit Pflanzenabfällen, gegenüber verschiedenen Chemotherapeutika (Betrieb X)

	Frischgülle ohne Anreicherung	Anzahl der Isolate	
		Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
resistent			
siebenfach			1
sechsfach			2
fünffach		1	4
vierfach	1	2	8
dreifach	2	5	28
zweifach	23	15	19
einfach	53	58	52
sensibel	37	67	36
$\bar{x}$ der Resistenzdeterminanten / Isolat	0,9	0,8	1,6
Isolate, insgesamt	116	148	150

Bei vorgeschalteter selektiver Anreicherung in Flüssigmedium erhielten die ein- und mehrfachresistenten Vertreter einen selektiven Vorteil, so daß weniger empfindliche Keime aus den Faulschlammproben züchtbar waren und sich bei diesen um 18,5% häufiger eine Mehrfachresistenz gegenüber den geprüften Chemotherapeutika zeigte als ohne vorherige Anreicherung. Daraus ergab sich demzufolge auch eine höhere durchschnittliche Anzahl an Resistenzdeterminanten pro Isolat, insgesamt gesehen (s.Tab.20).

Bei Zuordnung der Einzeldaten nach Herkunft der Gülle und danach, ob sie mit Pflanzenabfällen vermischt war oder nicht, ergab eine Gegenüberstellung gewisse Abweichungen voneinander.

Isolate aus unvermischter Frischgülle von Mastbullen (Betrieb I und II) erwiesen sich häufiger gegenüber den getesteten Chemotherapeutika als sensibel als Isolate aus Faulschlamm (s.Tab.21). Da die Isolate aus Faulschlamm jedoch häufiger nur einfach resistent waren, ergab sich als durchschnittliche Zahl an Resistenzdeterminanten pro Isolat bei Frischgülle und Faulschlamm (mit und ohne vorherige Anreicherung) annähernd der gleiche Wert (s. Tab.21).

War die Gülle hingegen mit Pflanzenabfällen vermischt worden, verhielt es sich umgekehrt (s.Tab.24). Die Isolate aus Frischgülle waren weniger sensibel als die Isolate aus Faulschlamm ohne vorherige Anreicherung; trotzdem ergab sich bezüglich der durchschnittlichen Zahl an Resistenzdeterminanten fast Übereinstimmung. Nach vorheriger Anreicherung wurden aus Faulschlamm sogar Keime isoliert, die maximal nicht nur fünffach, sondern sechs- und siebenfach resistent gegenüber den geprüften Stoffen waren. Zugleich lag durch eine höhere Quote an zwei- bis fünffach resistenten Vertretern die durchschnittliche Zahl an Resistenzdeterminanten pro Isolat mit 1,6 anstatt 0,8 ohne vorherige Anreicherung hier doppelt so hoch (s.Tab.24).

Isolate aus Schweinegülle mit den allgemein geringeren Quoten an sensiblen Keimen waren im Faulschlamm in geringerem Umfang mehrfach resistent ($\bar{x}$ der Resistenzdeterminanten $\leq 2,0$), und zwar auch, wenn zur selektiven Züchtung eine Voranreicherung erfolgt war.

Die Isolate aus Geflügelgülle wiesen die geringste Zahl an Resistenzdeterminanten pro Isolat auf; sie waren demnach zu einem hohen Prozentsatz ($> 80\%$) bereits in Frischgülle gegenüber Chemotherapeutika empfindlich. Die Isolate der Faulschlammproben verhielten sich hierin kaum anders (s.Tab.23).

Damit erwiesen sich vor allem die Isolate aus Schweinegülle und aus Faulschlamm von Rindern vermischt mit Pflanzenabfällen als Träger von R-Faktoren. Eine geringere Verweildauer (s.Betriebsdaten S.39) der Gülle im Reaktor bei Betrieb X im Vergleich zu den Betrieben I und II und der andersartige Wirkstoffeinsatz (therapeutisch, prophylaktisch und nutritiv) beim Schwein im Gegensatz zum Rind liefert möglicherweise dafür eine Erklärung.

3.2.2.2.3. Merkmalskombinationen

Bei Betrachtung der Resistenzbilder, die bei den einzelnen Isolaten gefunden wurden, fällt auf, daß bei den höher mehrfach resistenten Vertretern so gut wie keine Übereinstimmung bei den Keimen aus Frischgülle und Faulschlamm mit sowie ohne vorherige Anreicherung anzutreffen war. Wiederholt wurde unter den zwei- und dreifach resistenten Isolaten nur die Kombination TS, TSu, SSu und TSSu gefunden (s.Tab.25), welche auch bei E.coli der Faecalflora relativ häufig vorkommt (Gedek,1980, Siebert,1982). Während die Resistenzbilder der Isolate aus Frischgülle größtenteils mit denjenigen der Isolate aus der Faecalflora landwirtschaftlicher Nutztiere Übereinstimmung zeigen (Siebert,1982), trifft dies für Isolate aus Faulschlamm nicht zu.

Merkmalskombinationen, die sich aus einer Resistenz gegenüber Ampicillin, Kanamycin und/oder Sulfonamiden ergeben wie z.B. AK, ASu oder KSu, sind bei den mit den Faeces landwirtschaftlicher Nutztiere ausgeschiedenen E.coli-Keimen ungewöhnlich.

Tab. 25 : Auftreten bestimmter Merkmalskombinationen in den Resistenzeigenschaften von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus allen untersuchten Proben gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika

Resistenzbilder	Nachweishäufigkeit in		
	Frischgülle ohne Anreicherung n	Faulschlamm ohne Anreicherung n	Faulschlamm mit Anreicherung n
TSCAKSuFu =siebenfach resistent			1 0,3%
TSCAKSu TSCKSuFu =sechsfach resistent	1 0,3%		2 0,7%
TSCASu TSAKSu TASuFu TCASuFu =fünffach resistent		2 0,7%	1 1 2 1,4%
TSASu TSKSu TSSuFu TCASu TCAFu TCKSu TCSuFu TASuFu CAKFu CASuFu =vierfach resistent	1 1 1 1 1,4%	1 3 1 1,7%	1 2 1 1 2 1 1 3,7%

Tab. 25 : Fortsetzung

Resistenzbilder	Nachweishäufigkeit in		
	Frischgülle ohne Anreicherung n	Faulschlamm ohne Anreicherung n	Faulschlamm mit Anreicherung n
TSSu	7	6	29
TSFu			1
TCSu			1
TASu	2		
TAFu	1		
TSuFu	2		2
SASu	1		1
SKSu		3	
SSuFu			3
CSuFu			1
AKSu		1	6
ASuFu	3		
KSuFu	1		
= dreifach resistent	5,7%	3,3%	15,0%
TS	7	4	7
TC			1
TA	1		
TK	1	2	2
TSu	15	9	9
TFu	1		2
SC		1	1
SA		1	
SSu	8	2	7
CSu			1
AK	2	2	
ASu	9	3	2
KSu		4	6
SuFu	2	1	
= zweifach resistent	15,6%	9,8%	12,9%

Tab. 25 : Fortsetzung

Resistenzbilder	Nachweishäufigkeit in		
	Frischgülle ohne Anreicherung n	Faulschlamm ohne Anreicherung n	Faulschlamm mit Anreicherung n
T	33	26	36
S	3	12	8
C			
A	9	11	
K	1	14	8
Su	38	46	24
Fu	2		4
= einfach resistent	29,2%	36,4%	27,2%
sensibel	141 47,8%	144 48,1%	114 38,8%
Anzahl der geprüften Isolate	296	303	294

Unter den einfach resistenten Vertretern dominierten Gene mit Sulfonamid-Resistenz gegenüber denjenigen mit Tetracyclin-Resistenz. Aminoglykosid-Resistenz (S bzw. K) wurde relativ selten gefunden; eine Monoresistenz gegenüber Chloramphenicol trat in keinem Fall auf, was sich in Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen der Verbreitung von Chloramphenicol-Resistenz befindet (Gedek, 1981, Siebert, 1982). Eine Monoresistenz gegenüber Furazolidon wurde trotz teilweise hoher Resistenzquoten nur ausnahmsweise gefunden (6 Isolate von 893), was wiederum bestätigt, daß durch ein mit anderen Resistenzen vergesellschaftetes Auftreten der Furazolidonresistenz dieses Merkmal auch ohne den Einsatz von Nitrofuranen als Therapeutikum durch andere Stoffe hauptsächlich mitselektiert wird (Siebert, 1982).

3.2.2.2.4. Bestandsbezogener Vergleich der Resistenzquoten von Isolaten aus Kot und Gülle

Im Betrieb I, aus dem die größte Anzahl von Frischgülle- und Faulschlammproben zur Untersuchung gelangte (vgl. hierzu Tab. 2), wurden zum Vergleich auch Kotproben auf das Vorkommen von E. coli und coliformen Keimen mit Resistenz gegenüber den ausgewählten Chemotherapeutika untersucht.

Aus Tab. 26 geht hervor, daß die Keime aus dem Kot der Mastbullen, von denen auch die Gülle stammte, hauptsächlich - wie in Frischgülle und Faulschlamm - Sulfonamid- und Tetracyclin-resistent waren, allerdings mit einer etwas andersartigen prozentualen Verteilung. Der Prozentsatz an Isolaten mit Streptomycin-Resistenz lag bei Kot und Faulschlamm auf gleichem Niveau, in Frischgülle dagegen um das Zehnfache niedriger. Die selektive Anreicherung von E. coli im Faulschlamm bestätigte die Dominanz von TSSuFu im Material. In Frischgülle und Faulschlamm ohne Anreicherung fanden sich Isolate, die auch eine Ampicillin- und Chloramphenicol-

Tab. 26: Resistenzquoten sowie Häufigkeit von Ein- und Mehrfach-resistenz bzw. Empfindlichkeit von *Escherichia coli* und coliformen Keimen aus Faecalflora, Frischgülle und Faulschlamm von Mastbullen (n = 30) gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika (Betrieb I)

Chemotherapeutikum	Resistenzquoten in %			
	Faecalflora	Frischgülle	Faulschlamm ohne Anreicherung	Faulschlamm mit Anreicherung
Tetracyclin	16,5	22,1	25,0	29,2
Streptomycin	10,6	1,1	10,4	6,3
Chloramphenicol			2,1	
Ampicillin	2,4	5,3	2,1	
Kanamycin		2,1	6,3	
Sulfonamid	32,9	16,8	27,1	31,3
Furazolidon	3,5	4,2	4,2	6,3
resistent	Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz			
siebenfach				
sechsfach				
fünffach	1		1	
vielfach			3	
dreifach	2	5	3	4
zweifach	9	5	6	5
einfach	27	24	36	13
sensibel	46	61	47	26
Anzahl der geprüften Isolate	85	95	96	48

Tab.27 Auftreten bestimmter Merkmalskombinationen von E.coli und coliformen Keimen aus Faecalflora, Frischgülle und Faulschlamm von Mastbullen (n=30) gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika (Betrieb I)

resistent:	Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz in %		
	Faecalflora	Frischgülle	Faulschlamm
fünffach	1,2		0,7
vierfach			2,1
dreifach	2,4	5,3	4,9
zweifach	10,6	5,3	7,6
einfach	31,7	25,2	34,0
sensibel	54,1	64,2	50,7
Resistenzbilder	Nachweishäufigkeit in		
	Faecalflora n	Frischgülle n	Faulschlamm n
TSASuFu	1		1
TSSuFu			2
CAKFu			1
TSSu	1		2
TAFu		1	
TSuFu		2	2
SKSu		1	3
ASuFu	1		
KSuFu		1	
TS	2		1
TA		1	
TK			1
TSu	3	4	6
TFu			1
SC			1
SSu	4		1
T	6	13	22
S	2		2
A		3	
K			1
Su	18	8	24
Fu	1		
sensibel	46	61	47
Anzahl der geprüften Isolate	85	95	144

Resistenz aufwiesen, die Resistenzbilder dieser höher mehrfach resistenten Keime zeigten jedoch keine Identität mit denjenigen der Isolate aus dem Kot der Tiere.

Der Anteil sensibler Isolate stimmte bei Kot und Faulschlamm (s. Tab.27) überein; zwischen den einfach- und den mehrfachresistenten Vertretern zeigten sich zahlenmäßig keine Unterschiede. Bei Frischgülle dominierten die sensiblen gegenüber den resistenten Isolaten.

Lediglich drei Merkmalskombinationen wurden bei Isolaten aus allen drei Materialien Kot, Frischgülle und Faulschlamm mehrfach nachgewiesen, nämlich T, Su und TSu, worin sich möglicherweise der therapeutische Einsatz von Tetracyclin-Sulfonamid-Kombinationen beim Rind als Fütterungsarzneimittel widerspiegelt (Siebert, 1982). Die resistenten Keime trugen im Durchschnitt die gleiche Zahl an Resistenzdeterminanten pro Isolat. Da in Frischgülle die Zahl resistenter Keime geringer war als in Faulschlamm, könnte der prozentual höhere Anteil im Faulschlamm als eine Anreicherung dieser Keime gedeutet werden. Absolut gesehen verringert sich jedoch zugleich die Anzahl an *Escherichia coli* und coliformen Keimen im Faulschlamm um mehrere Zehnerpotenzen, so daß effektiv das Gegenteil eintritt. Der relativ höhere Anteil an einfach- und mehrfachresistenten Keimen kann eventuell mit einer höheren Unempfindlichkeit gegenüber anderen Milieueinflüssen zusammenhängen.

3.2.2.3. Resistenzeigenschaften von Keimen der Gattung Proteus gegenüber Chemotherapeutika

Die ergänzend an 100 Isolaten der Gattung *Proteus* durchgeführten Empfindlichkeitsprüfungen gegenüber sieben ausgewählten Chemotherapeutika ergab weitaus höhere Quoten an resistenten Keimen als bei *E.coli* und verwandten coliformen Keimen aus dem gleichen

Tab. 28 : Allgemeine Resistenzquoten sowie Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz bzw. Empfindlichkeit von Keimen der Gattung *Proteus* aus Rinder- und Schweinegülle gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika (Betrieb I,II,VI)

Chemotherapeutikum	Frischgülle	Faulschlamm
	Resistenzquoten in %	
Tetracyclin	64,8	65,2
Streptomycin	16,7	47,8
Chloramphenicol	29,6	34,8
Ampicillin	38,9	26,1
Kanamycin	9,3	21,7
Sulfonamid	42,6	32,6
Furazolidon	50,0	56,5
resistent	Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz in %	
siebenfach	2,2	2,3
sechsfach	2,2	6,8
fünffach	13,3	4,7
vierfach	20,0	27,9
dreifach	22,2	16,3
zweifach	20,0	20,9
einfach	20,0	20,9
sensibel	16,7	6,5
$\bar{x}$ der Resistenzdeterminanten / Isolat	3,1	2,9
Anzahl der geprüften Isolate	54	46
Zahl der Proben	6	5

Tab. 29 : Auftreten bestimmter Merkmalskombinationen in den Resistenzeigenschaften von Keimen der Gattung *Proteus* aus allen untersuchten Proben gegenüber ausgewählten Chemotherapeutika

Resistenzbilder	Nachweishäufigkeit in	
	Frischgülle n	Faulschlamm n
TSCAKSuFu =siebenfach resistent	1 1,9%	1 2,2%
TSCASuFu TSCKSuFu TCAKSuFu =sechsfach resistent	1 1,9%	2 1 6,5%
TSCKSu TSCSuFu TCAKFu TCASuFu SCAKFu =fünffach resistent	1 2 1 2 11,1%	1 1 4,3%
TSCSu TSCFu TSAFu TSKSu TSSuFu TCASu TCKFu TCSuFu TASuFu TKSuFu SCSuFu =vierfach resistent	1 1 1 1 1 1 2 3 1 20,4%	4 1 3 1 1 1 1 21,7%

Tab. 29 : Fortsetzung

Resistenzbilder	Nachweishäufigkeit in	
	Frischgülle	Faulschlamm
TSA	1	
TSFu		1
TCFu	1	2
TASu	1	
TAFu	4	2
TSuFu	1	
SCK		1
SCSu		1
CASu	1	
= dreifach resistent	16,7%	15,2%
TC	1	
TA	2	2
TK		1
TSu	1	
TFu	3	3
SK		2
SSu	1	
SFu		1
ASu	1	
= zweifach resistent	16,7%	19,6%
T	3	2
S	1	1
C		
A		
K		1
Su	3	1
Fu	2	3
= einfach resistent	16,7%	17,4%
sensibel	16,7%	6,5%
	9	3
Anzahl der geprüften Isolate	54	46

Untersuchungsmaterial. Die getesteten Keime der Gattung *Proteus* waren aus Rinder- und Schweinegülle von drei Betrieben (I,II,VI) isoliert worden. Die *Proteus*bakterien erwiesen sich hauptsächlich gegenüber Tetracyclin, Chloramphenicol und Furazolidon häufiger resistent als *E.coli* und coliforme Keime (vgl.Tab.15 und 28) und eine größere Anzahl war höher mehrfachresistent, so daß im Mittel etwa drei Resistenzdeterminanten auf ein Isolat kamen. Wie auch bei *E.coli* und coliformen Keimen zu beobachten war, lag der Anteil Aminoglykosid-resistenter Vertreter höher bei Isolierung aus Faulschlamm im Vergleich zur Frischgülle. Eine Resistenz gegenüber Ampicillin und Sulfonamiden war dagegen weniger häufig anzutreffen.

In den Resistenzquoten gegenüber Tetracyclin, Chloramphenicol und Furazolidon ergaben sich zwischen Frischgülle und Faulschlamm nur Unterschiede um einige wenige Prozent (s.Tab.28).

Eine Übereinstimmung in den Resistenzbildern der Keime aus Frischgülle und Faulschlamm bestand in zwölf Fällen, wobei es sich hauptsächlich um Kombinationen mit T und Fu handelte.

Es bestätigte sich wie bei *E.coli* und coliformen Keimen die Abnahme der gegenüber den getesteten Stoffen empfindlichen *Proteus*-bakterien in Faulschlamm im Vergleich zur Frischgülle.

4.

DISKUSSION

Bei jeder untersuchten Faulschlammprobe war der Gehalt an lebensfähigen mesophilen aeroben bzw. fakultativ anaeroben Keimen gegenüber Frischgülle reduziert, wenn auch nicht im gleichen Umfang. Einen Einfluß auf die geringere Keimabtötung bei Betrieb X im Vergleich zu den neun anderen überprüften Betrieben hatte vermutlich die häufigere Gülleeingabe innerhalb von 24 h und die erheblich geringere Verweildauer der Gülle im Faulraum (s.Tab.5 und 6). Eine Beziehung zwischen der Art der Biogasanlage, Größe des Faulraumes, Gärtemperatur sowie der Mischintensität einerseits und der jeweiligen Lebendkeimzahl im Faulschlamm andererseits ließ sich in keinem Falle herstellen.

Bei Berücksichtigung der Herkunft der Frischgülle, mit welcher die Biogasanlagen betrieben werden, stellte sich heraus, daß in der Höhe des Keimbesatzes an lebensfähigen Bakterien, Schimmelpilzen und Hefen tierartliche Unterschiede bestanden. Frischgülle von Geflügel wies den höchsten Besatz an Bakterien auf, was auf den hohen Anteil von Festmist in Geflügelgülle zurückzuführen sein dürfte (Platz,1975). In größerem Umfang als in Rinder- und Schweinegülle vorhandene unverbrauchte Nahrungsreste liefern außerdem ein hervorragendes Substrat für mesophile aerobe bzw. fakultativ anaerobe Bakterien, darunter möglicherweise auch für *Escherichia coli* und verwandte coliforme Keime.

Obwohl anzunehmen ist, daß Rindergülle und Schweinegülle als Flüssigmist neben Kot zu einem nicht unerheblichen Teil aus Harn und Wasser bestehen, entsprachen die pro Milliliter ermittelten Keimzahlen von *E.coli* und coliformen Keimen jenen pro Gramm Fäces bei Rind und Schwein (Haenel,1960, Smith,1965 a+b).

Entsprechend dem Vorkommen von Schimmelpilzen und Hefen im Futter von Mastbullen war die Lebendkeimzahl bei Rindergülle am höchsten. Hefen traten bereits in Frischgülle von Schwein und Geflügel nicht nennenswert hervor, da bei diesen Tierarten Futterzusatzstoffe Verwendung finden, die gegenüber Hefen wachstumshemmend oder sogar abtötend wirken.

Die Verwendung unterschiedlicher Futtermittel hingegen konnte das Ergebnis vermutlich nicht nennenswert beeinflussen, da hiervon bereits die Faecalflora kaum betroffen ist (Haenel, 1960, Smith, 1965 a+b).

Es überrascht der Befund, daß trotz unterschiedlicher Keimgehalte in der Frischgülle bei allen untersuchten Tierarten die Reduktion der mesophilen aeroben bzw. fakultativ anaeroben Bakterien und der coliformen Keime auf etwa das gleiche Niveau erfolgte.

Der geringste Keimgehalt pro Milliliter fand sich in der ausgefaulten Schweinegülle. Die verbleibenden *E.coli* und coliformen Keime waren jedoch im Vergleich zu denjenigen aus Faulschlamm von Rind und Geflügel häufiger gegenüber den getesteten Chemotherapeutika resistent als sensibel. Der prozentuale Anteil an resistenten Vertretern war beim Schwein allerdings insgesamt im Faulschlamm geringer als in Frischgülle, was bedeutet, daß eine Anreicherung R-Faktoren-tragender *E.coli* im Faulschlamm nicht erfolgt. Da die Resistenzbilder mit denen von Stämmen aus Schweinekot nur ausnahmsweise übereinstimmten, gehen eventuell einzelne R-Faktoren verloren oder As^{3+} - und Cu^{2+} -Ionen können ihren selektiven Einfluß geltend machen (Siebert, 1982).

Die höheren Quoten an gegenüber den getesteten Chemotherapeutika empfindlichen coliformen Keimen in der Frischgülle von Rind und Geflügel sprechen für andere selektive Einflüsse.

Ein Vergleich zwischen Kot von Mastbullen und ausgefaulter Gülle bei Betrieb I verdeutlicht, daß in den Resistenzquoten und der Häufigkeit von Einfach- und Mehrfachresistenz weitgehende Übereinstimmung bestehen kann. Die Zahl an coliformen Keimen war jedoch erheblich geringer, so daß dies zumindest als positiver Effekt zu werten ist, wenn schon eine vollständige Abtötung der Enterobacteriaceae während der Ausfäulung im mesophilen Temperaturbereich nicht erfolgt.

Die Differenzen in den jeweiligen resistenten und sensiblen Anteilen von *E.coli* und coliformen Keimen sowie die Ungleichheit in

den Resistenzbildern weisen daraufhin, daß eine weitreichende Umschichtung innerhalb der Bakterienpopulationen der Frischgülle erfolgt. Dies ist möglicherweise dadurch bedingt, daß in diesem Milieu andere Vertreter dieser Keimgruppe selektiv im Vorteil sind, weil sie den Prozeß der Ausfäulung überstehen. Es hat den Anschein, als ob vor allem monoresistente Vertreter in ausgefaulter Gülle von Rind und Geflügel überleben.

Die andersartigen Verhältnisse beim Schwein stehen sicher in Zusammenhang damit, daß bei dieser Tierart andere Chemotherapeutika und Wachstumsförderer zum Einsatz gelangen (Siebert, 1982).

Demnach dürften auch bei Ausbringung von Faulschlamm aus Biogasanlagen, die Schweinegülle umsetzen, arzneimittelresistente coliforme Keime häufiger verbreitet werden als mit dem Faulschlamm aus Biogasanlagen, die mit Rinder- und Geflügelgülle betrieben werden. Es sei denn, die Ausfäulung der Schweinegülle würde regelmäßig eine stärkere Reduktion der coliformen Keime bewirken, als dies für die Gülle der anderen Tierarten zutrifft.

Da keine Übereinstimmung in den Resistenzen zwischen den Coliformen und Keimen der Gattung *Proteus* gefunden wurde, ist anzunehmen, daß in Frischgülle und Faulschlamm zwischen den Bakterienarten kein nennenswerter Genaustausch stattfindet.

In pflanzlichen Futtermitteln nachgewiesene *E. coli* und verwandte coliforme Keime erwiesen sich hauptsächlich als Sulfonamid-, Ampicillin-, Furazolidon- und Chloramphenicol-resistent (Kowolik, 1983). Die Mehrzahl der Schwermetalle sowie auch Arsen selektieren Sulfonamid- und/oder Ampicillin-resistente Vertreter, Cu^{2+} außerdem Chloramphenicol-resistente coliforme Keime, so daß jedes Biotop in der Verteilung der Resistenzen andere Gesetzmäßigkeiten erkennen läßt. Dadurch ist womöglich von zweitrangiger Bedeutung, welche Art von R-Faktoren die coliformen Keime des Faulschlammes tragen, denn über Dominanz und Resistenz von Keimen mit bestimmten Eigenschaften entscheidet auch in der Umwelt der jeweilig herrschende Selektionsdruck.

Die geringere Zahl an resistenten E.coli und coliformen Keimen in Frischgülle als in den Faeces landwirtschaftlicher Nutztiere deckt sich mit den Feststellungen von Bell (1978) betreffend das Vorkommen von R-Faktoren bei dieser Keimgruppe im Abwasser.

Es bestätigte sich, daß mesophile Temperaturen nicht ausreichen, um in der Frischgülle vorhandene Salmonellen innerhalb der üblichen Ausfallzeiten vollständig abzutöten.

Während für Kläranlagen, in denen eine Anreicherung von pathogenen Keimen stattfindet, eine Faulung im thermophilen Bereich (50-60°C) erstrebenswert erscheint (Temper, 1983), wird eine solche Entwicklung aufgrund der mikrobiologisch wie auch chemisch andersartigen Zusammensetzung des Substrates und vor allem wirtschaftlicher Gegebenheiten nicht in Frage kommen.

Da zur Zeit die üblichen Vorrichtungen in den mechanisch-biologischen Kläranlagen nicht in der Lage sind, das Abwasser frei von Krankheitserregern zu machen, so daß der kommunale Klärschlamm auch in ausgefaultem Zustand z.B. Salmonellen, Escherichia coli, Clostridien etc. in großen Mengen enthält, gibt es bereits seit 1972 zumindest Richtlinien der Bundesländer für die Behandlung und Beseitigung von Klärschlamm, insbesondere in Zusammenhang mit der Erzeugung von Lebensmitteln (Philipp, 1981). Unter den empfohlenen Entseuchungsverfahren (z.B. Pasteurisierung, aerob-thermophile Stabilisierung, Kompostierung etc.) (Philipp, 1981) ist aber die mesophile anaerobe alkalische Faulung nicht erwähnt, so daß man die Vorteile einer Biogasanlage von vornherein nicht in einer deutlich nutzbaren Hygienisierung sehen darf.

Die Notwendigkeit einer gesetzlichen Regelung zur umwelthygienisch einwandfreien Anwendung von Reststoffen landwirtschaftlicher Nutztiere könnte sich bei dem Betreiben von Sammelbiogasanlagen ergeben (Philipp, 1981), wie sie zur Verteilung von Gülleüberschüssen empfohlen werden (Vetter, 1983).

In diesem Zusammenhang verdient nochmals herausgestellt zu werden, daß der Landwirt durch die Verarbeitung von Gülle in den bisher

üblichen Biogasanlagen - sofern die Erwartungen in hygienischer Sicht nicht zu hoch gesteckt werden - mit dem Faulschlamm ein durchaus brauchbares und somit für die Landwirtschaft wertvolles Produkt erhält (Halama,1980, Schraufstetter,1981).

5.

ZUSAMMENFASSUNG

Frischgülle und Faulschlamm aus insgesamt zehn Biogasanlagen wurden auf den Gehalt an lebensfähigen mesophilen aeroben bzw. fakultativ anaeroben Keimen untersucht. Es handelte sich dabei um im mesophilen Temperaturbereich arbeitende Betriebe, in denen Gülle von Mastbullen unvermischt und vermischt mit Pflanzenabfällen umgesetzt oder Gülle von Rind und Schwein, Schwein oder Geflügel ausgefault wurde.

Insgesamt wurden 86 Proben gezogen, davon 43 Proben Frischgülle und 43 Proben Faulschlamm, die zur Keimzählung mit steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurden. Jeweils 0,1 ml von jeder Verdünnungsstufe wurde zur Erfassung der zahlenmäßigen Anteile von Bakterien insgesamt, coliformen Keimen, Schimmelpilzen und Hefen mit einem sterilen Glasspatel auf der Oberfläche von fünf verschiedenen Nährböden verimpft (Fleischextrakt-Pepton-Agar OXOID mit und ohne Blutzusatz, Violet-Red-Bile-Agar OXOID, Wasserblau-Metachromgelb-Lactose-Agar nach Gaßner OXOID, Sabouraud-Glucose 2%-Agar MERCK). Nach jeweils entsprechender Bebrühtungszeit wurden die Kolonien ausgezählt und die jeweilige Keimzahl (KBE) pro Milliliter Frischgülle bzw. Faulschlamm ermittelt.

Als Verfahren zum Nachweis von Salmonellen wurde die IAG-Methode herangezogen und mit doppeltem Ansatz bei je 40 Proben Frischgülle bzw. Faulschlamm durchgeführt.

Bei Faulschlamm erfolgte zur Erfassung arzneimittelresistenter coliformer Keime ergänzend zur Durchführung des Plattenverfahrens eine Voranreicherung in Bouillon (Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung OXOID) über Nacht.

Im Betrieb I, aus welchem die Mehrzahl der Proben stammte, wurden außerdem 30 Kotproben gezogen und zum Vergleich ebenfalls auf Salmonellen und coliforme Keime untersucht.

978 Isolate von E.coli und coliformen Keimen aus Frischgülle und Faulschlamm von Rind, Schwein und Geflügel sowie aus Kot von Mastbullen wurden mit Hilfe des Plattendiffusionsverfahrens unter

Verwendung von Iso-Sensitest-Agar OXOID als Testmedium auf ihre Empfindlichkeit gegenüber sieben Chemotherapeutika geprüft. Die Interpretation der Hemmhöfe als "resistent" und "sensibel" erfolgte unter Berücksichtigung der Bewertungsgrenzen von NCCLS und DIN.

Im wesentlichen wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Die Lebendkeimzahl mesophiler aerober bzw. fakultativ anaerober Bakterien pro Milliliter Frischgülle lag zwischen $\log_{10} > 8,0$ - $< 9,0$, vorausgesetzt, es handelte sich um Gülle von Rind und/oder Schwein. Bei Gülle von Geflügel wurden etwa um eine Zehnerpotenz höhere Werte ermittelt. Bei Gülle von Rind vermischt mit Pflanzenabfällen wurden zum Teil auch Werte unter $\log_{10} 8,0/\text{ml}$ gefunden. Mit Ausnahme der Gülle vom Schwein wurden im Vergleich zur Lebendkeimzahl/ml von E.coli und coliformen Keimen um 2-3 Zehnerpotenzen geringere Werte festgestellt.

Im Faulschlamm war die Zahl an lebensfähigen Bakterien im Mittel etwa um eine Zehnerpotenz geringer bei Verwendung von Rindergülle und um 2 Zehnerpotenzen bei Verwendung von Schweine- sowie Geflügelgülle. Die Keimzahlen der Coliformen lagen zwischen $\log_{10} > 4,0$ und $< 5,0/\text{ml}$.

Schimmelpilze und Hefen waren hauptsächlich in Frischgülle vom Rind nachweisbar, die Keimzahlen lagen hier zwischen $\log_{10} > 2,0$ und $< 5,4$.

Salmonellen konnten zweimal identifiziert werden, und zwar in je einer Probe Frischgülle und Faulschlamm vom Rind; sie ließen sich serologisch keiner Spezies zuordnen.

Isolate von coliformen Keimen aus Gülle vom Schwein erwiesen sich häufiger als arzneimittelresistent als Isolate aus Proben anderer Herkunft. Die allgemeinen Resistenzquoten sowie die Häufigkeit von Ein- und Mehrfachresistenz und das Auftreten bestimmter Resistenzbilder bei den Isolaten ergaben keine Hinweise, daß die Zahl der R-Faktoren bei E.coli und verwandten coliformen Keimen zunimmt oder abnimmt.

In Frischgülle von Rind und Geflügel waren zwar häufiger sensible als resistente Keime anzutreffen, zugleich waren aber die lebensfähigen coliformen Keime im Faulschlamm stark vermindert.

In der ausgefaulten Gülle vom Schwein hatte der Anteil arzneimittelempfindlicher Vertreter stattdessen gegenüber den resistenten zugenommen.

Eine Abhängigkeit von der Art der Biogasanlage, der jeweiligen im mesophilen Bereich liegenden Gärtemperatur, der Größe des Faulraumes sowie der Mischintensität in 24 h bestand in Bezug auf die Höhe der von Bakterien, Schimmelpilzen und Hefen nachgewiesenen Keimzahlen nicht. Desgleichen hatte die Art der Fütterung darauf keinen Einfluß; lediglich bei einer Verweildauer von nur 5 - 10 Stunden führte die Ausfäulung zu einer geringeren Reduktion der Bakterien im Faulschlamm.

MESOPHILIC AEROBIC RESPECTIVELY FACULTATIVE ANAEROBIC GERMS IN
LIQUID MANURE AND DIGESTED SLUDGE FROM BIOGAS PRODUCTION

SUMMARY

The present study was undertaken to determine the contents of viable mesophilic aerobic respectively facultative anaerobic germs in liquid manure and digested sludge from altogether ten biogas plants. The plants were working in the mesophilic temperature range; there manure from fattened cattle was used unmixed or mixed with vegetable waste or manure from cow and pig, pig or poultry was digested.

A total of 86 samples were cultivated, 43 of which were samples of liquid manure and 43 of digested sludge. For the enumeration of germs the samples were diluted with sterile physiological saline. The quantitative portions of bacteria in general, of coliforms, moulds and yeasts were determined by inoculating 0,1 ml of every dilution step on the surface of five different culture-media with a sterile glass spatula (Blood Agar Base OXOID with and without addition of blood, Violet-Red-Bile-Agar OXOID, Gassner-Medium OXOID, Sabouraud-Glucose 2%-Agar MERCK). After an appropriate time of incubation the colonies were enumerated and the number of germs per milliliter liquid manure respectively digested sludge in every medium was evaluated.

In order to prove salmonella the IAG-method was used with 40 samples each of liquid manure and of digested sludge with double cultivation-procedure.

Supplementary to the plate method digested sludge was preenriched overnight in broth (Brilliant Green Bile 2% Broth OXOID), thus recording coliforms which are resistant to drugs.

Additionally 30 samples of faeces from plant I, most of the samples came from, were cultivated and examined for salmonella and coliforms in comparison.

978 isolates of E.coli and coliforms from liquid manure and digested sludge from cow, pig and poultry and faeces of fattened cattle were tested for their sensitivity to seven chemotherapeu-

tics with the plate disc diffusion method, using Iso-Sensitest-Agar OXOID as a test medium. The interpretation of the inhibition zones as "resistant" and "sensitive" was worked out according to the valuation limits of NCCLS and DIN.

In the main the following results were achieved :

The counts of living cells of mesophilic aerobic respectively facultative anaerobic bacteria per milliliter liquid manure were determined between $\log_{10} >8,0$ - $<9,0$, provided, it was manure from cattle and/or pig. In manure from poultry the figures were higher by about one power of ten. Figures under $\log_{10} 8,0/\text{ml}$ were now and then found in manure from cattle mixed with vegetable waste. Compared to the counts of living cells the amount of E.coli and coliforms was by 2-3 powers of ten lower with the exception of manure from pigs.

In digested sludge the number of viable bacteria was at an average about one power of ten smaller if manure from cows was used and about 2 powers of ten smaller with manure from pigs as well as poultry. The number of cells of the coliforms was between $\log_{10} >4,0$ and $<5,0/\text{ml}$.

Moulds and yeasts were evident mainly in liquid manure from cattle, the number of cells lying between $\log_{10} >2,0$ and $<5,4$.

Salmonella could be detected twice, namely once in a sample of liquid manure and once in digested sludge both from cattle, but they couldn't be classified serologically.

Isolates of coliforms from pig manure showed to be resistant to drugs more frequently than isolates from samples of the other origin. The general quotes of resistance as well as the frequency of single or multiple resistance and the appearance of certain resistance patterns with the isolates did not suggest an increase or decrease of the number of E.coli and coliforms carrying R-factors.

In liquid manure from cattle and poultry sensitive germs could be discovered more frequently than resistant ones, but at the same time viable coliforms in digested sludge were highly diminished. On the other hand the portion of germs, sensitive to chemotherapeutics as compared to the resistant ones had increased in digested sludge from pigs.

As far as the number of cells determined for bacteria, moulds and yeasts is concerned there was no dependence of the results on the type of biogas plant, on the corresponding fermentation temperature, which lay in the mesophilic area, on the dimensions of the digester and on the mixing intensity within 24 h. The feed composition didn't have an influence either; only if the duration was about 5 - 10 hours the digestion led to a lessened reduction of bacteria in digested sludge.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- AHRENS,W., 1956/57 : Experimentelle Untersuchungen zur Frage der seuchenhygienischen Unbedenklichkeit von ausgegastem Schlamm. Wiss.Z.d.Techn.Hochschule Dresden, 6 , 1099-1101
- BAADER,W., DOHNE,E. und BRENNDÖRFER,M., 1978 : Biogas in Theorie und Praxis. KTBL 229
- BELL,R.G., 1978 : Antibiotic resistance patterns of fecal coliforms isolated from domestic sewage before and after treatment in an aerobic lagoon. Can.J.Microbiol., 24, 886-888
- BISCHOFF,TH., 1981 : Das Biogas-Forschungsprogramm der Landesanstalt für landwirtschaftliches Maschinen- und Bauwesen. Agrartechn.Ber.,Univ.Hohenheim, 15 : Biogasgewinnung und -verwertung, 3-11
- BRUNNER,G., 1952 : Die Widerstandsfähigkeit von Enteritidbakterien gegen Klärschlammfäulnis und gegen das Eintrocknen in ausgefaultem Schlamm. Gesundheits-Ing., 73 ,19-21
- BRUNNER,G., 1956 : Die Widerstandsfähigkeit von Gärtnerbakterien (Salmonella enteritidis) gegen die Klärschlammfäulnis in einem beheizten Faulraum. Münchner Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- u.Flußbiologie : Gewinnung und Verwertung von Methan aus Klärschlamm und Mist, 3 , 23-32
- BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN,1982: Energie in der Landwirtschaft - Biogas. KTBL Darmstadt
- FACHINFORMATIONSZENTRUM ENERGIE, PHYSIK, MATHEMATIK GmbH, 1981: Beschreibung verschiedener Anlagetypen zur Biogasgewinnung. BINE-Informationpaket : Energie aus Biomasse, 83-96

- FONTAINE III,T.D., HOADLEY,A.W., 1976 : Transferable drug resistance associated with coliforms isolated from hospital and domestic sewage. Health Labor.Sci., 13 ,238-245
- GEDEK,B., 1974 : Möglichkeiten und Grenzen der mikrobiologischen Futtermittelkontrolle. Dt.tierärztl.Wschr., 81 ,37 - 40 und 65-68
- GEDEK,B., 1980 : Moderni promotori di crescita e resistenza batterica - Modern growth promoters and bacterial resistance. Estratto dal Volume "Performance nelle produzioni animali", Tavola Rotondo di Milano (11.ottobre 1979). Edizioni Menerva Medica,pp 103 und 277
- GEDEK,B., 1981 : Wirkung von Kupfer im Tierfutter als Selektor antibiotikaresistenter E.coli-Keime beim Schwein. Tierärztl.Umsch., 36 , 6
- GEDEK,B., 1982 : Occurrence of plasmid-determined resistance in bacterial populations of animal origin and from feeding-stuffs. In P.POHL und J.LEUNEN C.E.C.Seminar on resistance and pathogenic plasmids. Publ.National Institute for Veterinary Research, Brüssel (Selbstverlag)
- HAENEL,H., 1960 : Aspekte der mikroökologischen Beziehungen des Makroorganismus,Zbl.Bakt.Hyg.Ref. 176 , 305-425
- HALAMA,A.K., 1980 : Dungveredelung durch Biokonversion (Zusammenstellung für die Fa.BVT)
- HANDBUCH NÄHRBÖDEN MERCK, 1983, Darmstadt
- HARMSSEN,H., 1955 : Hygiene der Abwasserlandbehandlung. Ber.d.abwassertechn.Verein.,135-136
- JAKOBY,G.A., SWARTZ,M.N., 1980 : Plasmids: microbiologic and clinical importance. In L.WEINSTEIN, B.N.FIELDS : Seminars in infectious diseases, 3 , Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 1-37

- KAPP,H., 1981 : Aufbau, Funktion und Betriebsweise von kommunalen Faulanlagen. Agrartechn.Ber., 15 : Biogasgewinnung und -verwertung, 30-37
- KÖSER,A., 1967 : Die tierhygienische Seite der landwirtschaftlichen Abwasser- und Abwasserschlammmverwertung. Schriftenreihe d.Kuratoriums für Kulturbauwesen, 16 : Abwasser- und Abwasserschlammmverwertung in hygienischer Hinsicht, 25-42
- KOWOLLIK,N., 1983 : Zum Vorkommen von chemoresistenten Enterobacteriaceae und Pseudomonaceae in Futtermitteln. Vet. med.Diss., Univ. München
- LIEBMANN,H. 1950 : Zur Biologie der Methanbakterien. Gesundh.Ing. 71 , 14-59
- McKINNEY,R.E., LANGLEY,H.E. und TOMLINSON,H.D., 1958 : Survival of Salmonella typhosa during anaerobic digestion. Sew. a.Industr.Wastes, 30 , 1469-1477
- McLACHLAN,J.A., 1949 : Sewage sludge and disease - the role of the sludge digestion process. J.a.Proc., Inst.of Sew. Purif.I, 75-77
- MESSERSCHMITT-BÖLKOW-BLOHM GmbH, 1981 : Biogasanlage Schraufstetter, ein Projekt im Auftrag des Bundesministeriums für Forschung und Technologie. Planungsbüro und landwirtschaftlicher Anlagenbau Schraufstetter, Ismaning
- MÜLLER,W., 1954 : Schlammbehandlung und Krankheitserreger. Gesundh.Ing. 75 , 187-189
- MÜLLER,W., 1967 : Untersuchungen über die Lebensfähigkeit von Salmonellen bei der anaeroben alkalischen Schlammfäulung im beheizten und unbeheizten Faulraum. Diss.Gießen
- MÜLLER,W., STRAUCH,D., 1968 : Ist es sinnvoll, aus hygienischen Gründen bei Faulräumen eine Verlängerung der Schlammfäulzeiten zu fordern ? Gesundh.Ing. 89 , 118-121

- MUNCH,B., SCHLUNDT,J., 1983 : On the reduction of pathogenic and indicator bacteria in animal slurry and sewage sludge subjected to anaerobic digestion or chemical disinfection. In : Proc.of the Comm.of the European Communities, German Vet.med.Soc. (DVG) and Food a.Agric.Organ. D.STRAUCH : Hygienic Problems of animal manures, Univ. Hohenheim, 130-149
- PHILIPP,W., 1981 : Hygienische Aspekte bei kommunalen und wirtschaftlichen Faulanlagen. Agrartechn.Ber., 15 : Biogasgewinnung und -verwertung, 49-61
- PLATZ,S., 1975 : Hygienisierung und Verwertungsmöglichkeiten von Geflügelkot und -einstreu - eine Literaturübersicht. Archiv f.Geflügelkunde, 5 , 158-166
- POCH,M., HÄNSKE,L., 1968 : Die biologisch-thermische Desinfektion von Gülle mit Hilfe der thermophilen Methangärung. Z.f.d.gesamte Hyg., 14 ,553-555
- POPP,L., 1967 : Bakteriologische und virologische Untersuchungen in Abwasserverwertungsgebieten Niedersachsens. Schriftenr.d.Kurat.f.Kulturbauwesen , 16 : Abwasser- und Abwasserschlammmverwertung in hygienischer Hinsicht, 68
- ROEDIGER,H., 1967 : Die anaerobe alkalische Schlammfäulung. Oldenbourg - Verlag, München-Wien, 56-61
- ROEDIGER,H., 1971 : Erfahrungen mit der Schlammpasteurisierung. Kommunalwirtsch., 9 (Sonderdruck)
- ROEDIGER,H., 1979 : Anaerobe alkalische Methanfäulung feuchter Abfallstoffe. 4.Symp.Techn.Mikrobiol. Berlin (Inst.f. Gärungsgewerbe u.Bautechnol.), 225-232
- ROLLE,M., MAYR,A., 1978 : Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre. Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 4.Aufl.
- RUDOLFS,W., FALK,L.L. und RAGOTZKIE,R.A., 1950 : Literature review on the occurrence and survival of enteric, pathogenic and relative organisms in soil, water, sewage and sludges,and on vegetation.Sew.a.Industr.Wastes, 22 , 1261-1281

- SCHEFFER,F., SCHÜTZ,F., BRÜNE,H. und WORATZ,H., 1955 : Über die Lebensfähigkeit pathogener Darmbakterien in Faulschlamm und Jauche. Z.f.Pflanzenernähr.,Düng.,Bodenkunde, 70 ,253-260
- SCHULZ,H., 1980 : Aktuelle Möglichkeiten und Probleme der Biogasnutzung. Sonnenenergie u.Wärmepumpe, 5 ,6-8
- SEYDEL,J., 1982 : Zum Nachweis von Salmonellen in Futtermitteln. Vet.med.Diss., Univers.München
- SIEBERT,TH., 1982 : Zur Selektion von E.coli mit plasmid-codierter Chemotherapieresistenz durch Metallionen beim landwirtschaftlichen Nutztier. Vet.med.Diss., Univ. München
- SMITH,H.W., 1965 a:Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. J.Path.Bact., 89 ,95-122
- SMITH,H.W., 1965 b:The development of the flora of the alimentary tract in young animals. J.Path.Bact., 90 ,495-513
- STOKES,E.J., JONES,E.E., MOHUN,A.F. and MILES,A.A., 1945 : Effect of drying and digestion of sewage sludge on certain pathogenic organisms. J.a.Proc., Inst.of Sew.Purif.I, 36 , 36-44
- STRAUCH,D., 1964 : Veterinärhygienische Untersuchungen bei der Verwertung fester und flüssiger Siedlungsabfälle. Schriftenr.a.d.Geb.d.öff.Gesundheitswesens, 18 ,11-12
- STRAUCH,D., KNOLL,K.H., 1965 : Beitrag zum Thema "Klärschlammproblem". Intern.Arbeitsgem.Müllforsch., Informationsblatt 24, 12-13
- STRAUCH,D., BAADER,W. und TIETJEN,C., 1977 : Abfälle aus der Tierhaltung. Ulmer Verlag Stuttgart, 266-267
- STRAUCH,D., 1981 : Hygienische Gesichtspunkte der Lagerung und Ausbringung von Stallmist und Gülle. D.Tierzüchter, 33 ,149-150

- STUTZER,D., 1980 : Biogasverfahren in der Geflügelhaltung. Dtsch. Geflügelwirtsch.u.Schweineprod., 32 ,680-683
- TEMPER,U., STEINER,A., WINTER,J. und KANDLER,O., 1981 : Thermophile Methangärung - Stand und Aussichten. BMFT-Statusseminar, 16./17.1981, 19-38
- TEMPER,U., 1983 : Methangärung von Klärschlamm und anderen komplexen Substraten bei mesophilen und thermophilen Temperaturen. Diss.Fak.Biol., Univ.München
- VETTER,H., 1983 : Richtige Gülledüngung. Sonderdruck aus Landwirtschaftsblatt Weser-Ems Nr.49 , 50 , 51
- VIEHL,K., 1941 : Untersuchungen über Schlammfäulung. Gesundh.Ing. 64 , 438-446
- WILLINGER,H., THIEMANN,G., 1983 : Survival of some pathogens in liquid manure during biogas production. Proc.of the Comm.of the European Communities, German Vet.med.Soc. (DVG) a. Food and Agric.Organ. D.STRAUCH : Hygienic problems of animal manures. Univ.Hohenheim, 210-216
- WENZLAFF,R., 1980 : Biogas-Probleme, Marktübersicht, Empfehlungen. top agrar 5 , 98
- WENZLAFF,R., 1981 : Erfahrungen mit Biogas im praktischen Betrieb. KTBL 266

Lebenslauf

Am 1. November 1956 wurde ich, Anne-Elsbeth Baronin von Stromberg, als zweites Kind des Dipl.Ing. Götz Baron von Stromberg und seiner Ehefrau Susanne, geb. Geiger, in Erlangen geboren.

Nach vierjährigem Besuch der Friedrich-Rückert-Schule in Erlangen trat ich 1967 in das Gymnasium Fridericianum Erlangen ein und legte dort 1976 das Abitur ab.

Im Wintersemester 1976/77 begann ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München mit dem Studium der Tiermedizin und schloß im Winter 1981/82 mit dem Staatsexamen ab. Meine Approbation als Tierarzt erhielt ich am 8.März 1982.

Seit März 1982 war ich mit der Anfertigung meiner Dissertationsarbeit am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenmedizin im Fachbereich Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München beschäftigt.

Seit dem 29.Juli 1983 bin ich mit dem Tierarzt Heinrich Albrecht-Baron von Stromberg, geb. Albrecht, verheiratet.

Für die Überlassung des Themas, die stets freundliche und persönliche Betreuung der Arbeit und die mir jederzeit gewährte Aussprache möchte ich Frau Prof. Dr. B. Gedek sehr herzlich danken.

Herrn Prof.Dr.Dr.h.c.mult. A.Mayr danke ich besonders für die mir gewährte Arbeitsmöglichkeit und sein Interesse an meiner Arbeit.

Weiterhin danke ich Herrn LA Dr. W. Richter von der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht in Grub für die Bereitstellung der meisten Proben und seine hilfreiche Beratung.

Frau S. Maron möchte ich für ihre großzügige und unentbehrliche Hilfe bei der Einweisung wie auch bei der Ausführung der Laborarbeit danken, ebenso Frau V. Wagner für ihre stets bereitwillige und liebenswürdige Unterstützung bei der Herstellung des Arbeitsmaterials.

